

エンドセリン 1の糖尿病性血管機能障害に対する 役割と治療薬との関わり

著者	松本 貴之, 田口 久美子, 小林 恒雄
雑誌名	星薬科大学紀要
号	56
ページ	107-126
発行年	2014-10-31
URL	http://id.nii.ac.jp/1240/00000391/

エンドセリン-1の糖尿病性血管機能障害に対する役割と治療薬との関わり

松本貴之、田口久美子、小林恒雄

星薬科大学 医薬品化学研究所 機能形態学研究室

The role of endothelin-1 on diabetic vasculopathy and beneficial effects of current therapeutic drugs for diabetes on the vascular endothelin-1 system

Takayuki MATSUMOTO, Kumiko TAGUCHI, Tsuneo KOBAYASHI

Department of Physiology and Morphology, Institute of Medicinal Chemistry, Hoshi University

1. はじめに

糖尿病は、我が国のみならず世界中で激増している重要な疾患である。糖尿病の罹患期間が長期に及ぶと、やがて糖尿病性血管合併症（大血管障害・細小血管障害）が発症・進展し、患者の quality of life (QOL) を著しく低下するとともに、生命予後をも悪化させることとなる。これまで、多くの研究から血糖コントロールが合併症の予防や軽減に有効であることが報告されている。全身性に起こる合併症は血糖コントロールのみでは完全に防ぐことも出来ないことも事実であり、早急な治療法の確立が望まれている (Akalin *et al.*, 2009, Stettler *et al.*, 2006, Skyler *et al.*, 2009, Brown *et al.*, 2010, Macisaac and Jerums, 2011, Tandon *et al.*, 2012, Paneni *et al.*, 2013)。

血管内皮細胞と平滑筋細胞は血管機能において非常に重要な役割を果たしており、種々の疾患においてその機能障害が起こることが知られている (Figure 1)。血管内皮細胞は、血管の内腔すなわち血流と接しているところに一層で存在している。血管は全身にくまなく分布していることから、内皮細胞は最大の内分泌器官とも考えられている。実際、内皮細胞は、血管緊張性調節、血液凝固、免疫反応調節、血管構成細胞の成長など、血管機能を正常に保つような非常に多くのメディエータを分泌し生体のホメオスタシスを保っている (Roberts and Porter, 2013, Michiels 2003, Pries and Kuebler, 2006, Feletou 2011, Triggle *et al.*, 2012, Favero *et al.*, 2014) (Figure 2)。内皮から放出される因子として、最も重要な因子の一つが一酸化窒素 (nitric oxide, NO) である (佐久間 2001)。NO は動脈硬化形成の抑制において多彩な役割を果たしている。例えば NO は、

血小板凝集阻害作用、平滑筋細胞増殖抑制作用、vascular cell adhesion molecule (VCAM) や、intercellular adhesion molecule (ICAM) といった leukocyte-adhesion 分子群の転写抑制作用などを示す (Verma and Buchanan, 2003, Pacher *et al.*, 2007, Balligand *et al.*, 2009, Forstermann and Sessa, 2012)。また、内皮細胞の近傍に位置する平滑筋細胞へ拡散し、血管弛緩反応を引き起こす重要な内皮由来弛緩因子 [endothelium derived relaxing factor (EDRF)] である (Favero *et al.*, 2014, 佐久間 2001, Furchgott and Zawadzki, 1980, Okamura 2006, Feletou *et al.*, 2012)。さらに、他の重要な EDRF として、プロスタサイクリン (PGI₂) と内皮由来過分極因子 [endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)] が知られている (Figure 2)。これらの EDRF の詳細に関しては、他の総説を参照されたい (Bryan *et al.*, 2005, Edwards *et al.*, 2010, Matsumoto 2010, Feletou

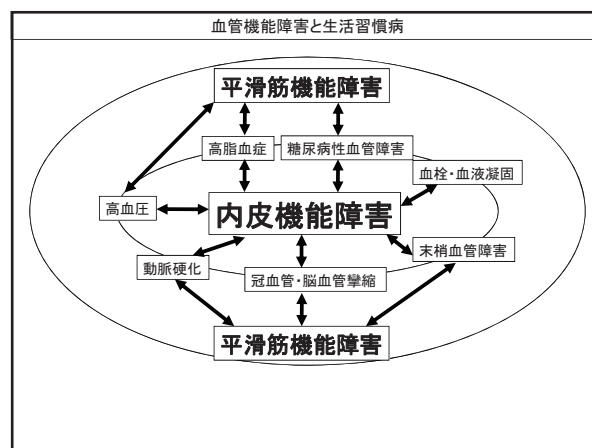


Figure 1. 血管機能障害と生活習慣病

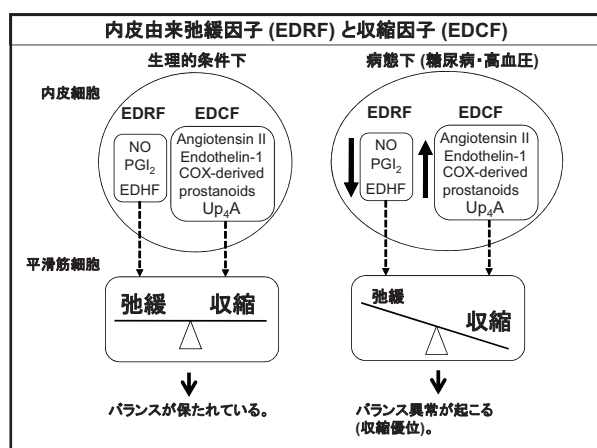


Figure 2. 内皮由来弛緩因子と収縮因子

生理的条件下では、EDRF と EDCF のバランスが保たれているが、糖尿病や高血圧などの病態下においては、これらのバランスの異常が生じる。

EDRF; endothelium-derived relaxing factor, EDCF; endothelium-derived contracting factor, NO; nitric oxide, PGI₂; prostacyclin, EDHF; endothelium-derived hyperpolarizing factor, COX; cyclooxygenase, Up₄A; uridine adenosine tetraphosphate

2011, Triggler *et al.*, 2012)。内皮細胞は、EDRF のみならず、収縮因子 [endothelium-derived contracting factor (EDCF)] も産生・遊離する (Figure 2)。EDCF には、本総説の主要テーマであるエンドセリン-1 (ET-1) のみならず、prostaglandin H₂ (PGH₂) や thromboxane A₂ (TXA₂) といった血管収縮性プロスタノイド、内皮細胞に結合したアンギオテンシン変換酵素 (ACE) によって産生されたアンギオテンシン II (Ang II)、reactive oxygen species (ROS)、ウリジンアデノシンテトラフォスフェート (Up₄A) 等があり、EDRF と共に血管機能 (特に病的状態において) に影響する (Tang and Vanhoutte, 2009, Feletou *et al.*, 2011, Matsumoto *et al.*, 2011) (Figure 2)。

血管機能障害は文字通り、血管を構成する細胞の機能障害であり、内皮細胞機能障害は、内皮由来弛緩因子と収縮因子のバランス破綻と捉えられ、糖尿病性細小血管障害、大血管障害の発症・進展に関して、共通の病因であるため、その発症・進展における分子メカニズムの全容解明が早急な課題となっている (Roberts and Porter, 2013, De Vriese *et al.*, 2000, Kobayashi *et al.*, 2004, Matsumoto *et al.*, 2008, Forbes and Cooper, 2013, Sena *et al.*, 2013, Carrillo-Sepulveda *et al.*, 2014) (Figures 2, 3)。近年では、内皮細胞のみならず、平滑筋細胞の機能異常並びに内皮細胞とのクロストーク異常が病態形成に重要であると考えられている。平滑筋細胞は、これら内皮由来因子の最も重要な受容器であ

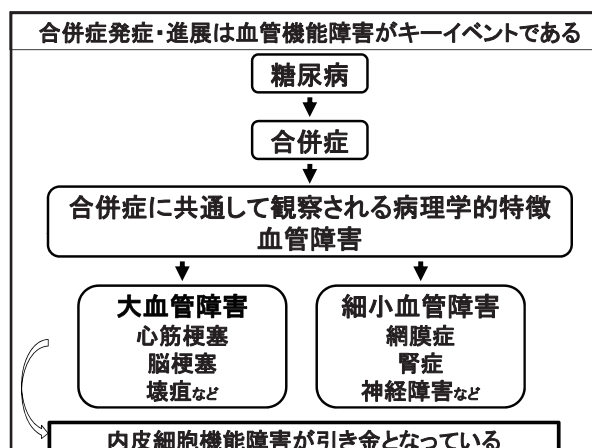


Figure 3 糖尿病合併症と血管障害

り、収縮・弛緩を行うことで血管緊張を巧妙に調節するのみならず種々の病的状態において平滑筋細胞の機能が変化することが知られている (Triggler *et al.*, 2012, Porter and Riches, 2013, Gouloupoulou and Webb, 2014)。従って、糖尿病時における血管機能障害は、内皮機能のみならず、平滑筋機能をも念頭において考えなければならない (Figures 1-3)。糖尿病合併症の病態生理は大変複雑であるが、強力な血管収縮因子で細胞に対し増殖や、線維化、炎症などを惹起することで知られている ET-1 は、その病態形成に寄与している可能性が指摘されている (Brunner *et al.*, 2006, Ergul 2011, Rodriguez-Pascual *et al.*, 2011, Pernow *et al.*, 2012, Matsumoto *et al.*, 2014, Campia *et al.*, 2014, Lam 2001)。本総説においては、糖尿病病態時における ET-1 のシグナル異常、糖尿病治療と ET-1 との関わりについて、ET-1 の内皮及び平滑筋の機能への影響を中心に当研究室の研究の一部を紹介しつつ概説する。

1. エンドセリン (endothelin)

エンドセリンは、当時筑波大学基礎医学系薬理学教室の大学院生であった柳沢正史らのグループ (真崎知生教授) によって発見され、1988 年の「Nature」誌に報告された (Yanagisawa *et al.*, 1988)。内皮 (エンドセリウム) の産生する物質という意味でエンドセリンと名付けられた (真崎 2004)。ブタ大動脈血管内皮細胞の培養上清から、強力な血管収縮作用を有する生理活性物質として、単離・精製、及び遺伝子の同定がなされた (Yanagisawa *et al.*, 1988, Inoue *et al.*, 1989)。エンドセリンは、21 アミノ酸残基からなる生理活性ペプチドであり、主として血管内皮細胞で産生される ET-1 の他に、異なる遺伝子によってコードされる 2 つのアイソフォーム、すなわち ET-2、ET-3 が存在する (Figure 4)。前駆体は preproET-1 といい、フューリン様工

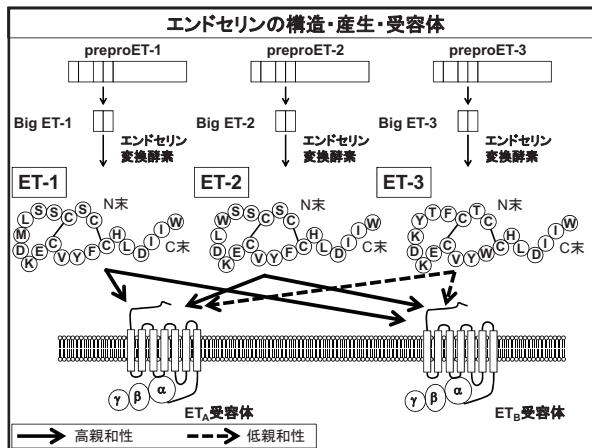


Figure 4. エンドセリンの構造・産生・受容体

アミノ酸は、一文字表記している。

エンドペプチダーゼで中間体の big ET-1 にプロセッシングを受けた後、エンドセリン変換酵素 (ECE) によって活性化型 ET-1 が生成される (栗原 2001, Xu *et al.*, 1994) (Figure 4)。受容体は ET-1, 2 選択性の ET_A、非選択性の ET_B の 2 種類の G タンパク質共役型受容体が知られており、多彩な生理作用を発揮する (栗原 2001, Webb *et al.*, 1998, Miyauchi and Masaki, 1999) (Figure 4)。主な生理作用を表にまとめた (表 1)。血管緊張性調節 (Taddei *et al.*, 2001, Bohm and Pernow, 2007)、動脈壁硬化 (arterial stiffness) (McEniery *et al.*, 2003, Iemitsu *et al.*, 2006, Dhaun *et al.*, 2011)、腎機能 (Na⁺、水排泄、糸球体濾過速度調節、腎血流調節) (Chade *et al.*, 2014, Nasser *et al.*, 2014, Kohan and Barton, 2014)、心機能 (Miyauchi and Masaki, 1999) といった心血管系に対し多彩な作用を示す他、神経系、発生系、感染 (Freeman *et al.*, 2014) にも重要な役割を果たすことが知られている (Figure 5)。例えば、ET システムが

表 1. ET-1 とその作用まとめ

エンドセリンの主な生理作用	
標的臓器	作用
脳 (下垂体)	前葉ホルモン分泌促進
脳 (脳幹)	交感神経賦活、呼吸循環調節作用
脳 (視床下部)	サブスタンス P、パソプレシン、成長ホルモン放出ホルモン産生促進
心臓	陽性変力・変時作用、心房性ナトリウム利尿ペプチド分泌促進、カテコラミンの催不整脈作用抑制
血管	内皮由来因子 (NO, PGI ₂ , EDHF) 産生促進 平滑筋収縮 リモデリング
腎臓	近位尿管における水・Na ⁺ 再吸収調節 集合管 N ⁺ -K ⁺ -ATPase 抑制
副腎	傍糸球体細胞からのレニン分泌抑制 髄質からのカテコラミン分泌促進
気管支	平滑筋収縮
子宮	平滑筋収縮
消化管	平滑筋収縮
各種細胞	細胞増殖促進作用

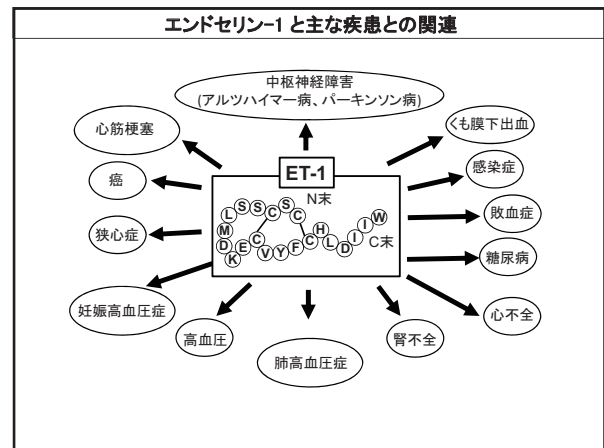


Figure 5. ET-1 と疾患との関わり

胎生期において神経堤細胞の発生・分化に重要な因子であることがノックアウトマウスから明らかとなり (Kurihara *et al.*, 1999)、ET-1/ET_A 受容体系は頭部神経堤細胞に由来する顎顔面および心大血管の形成に、ET-3/ET_B 受容体系は体幹部神経堤細胞に由来する腸管神経・皮膚メラノサイトの形成に關与しており、ET-3/ET_B 受容体系の遺伝子変異は、ヒトにおいて Hirschsprung 病の原因として同定されている (栗原 2001)。

2. ET-1 と病態

ET-1 と病態との関連も数多く指摘されている (Figure 5)。ET-1 は生理的条件下においては、主として内皮細胞から微量産生される。一方、種々の病態下においては、内皮細胞をはじめ、平滑筋細胞、心筋細胞、マクロファージや白血球などの免疫系細胞など様々な細胞から産生される (Sessa *et al.*, 1991, Ehrenreich *et al.*, 1990, Ito *et al.*, 1993)。これまで、様々なモデル動物や疾患患者の解析から循環 (血中) ET-1 量の増加が

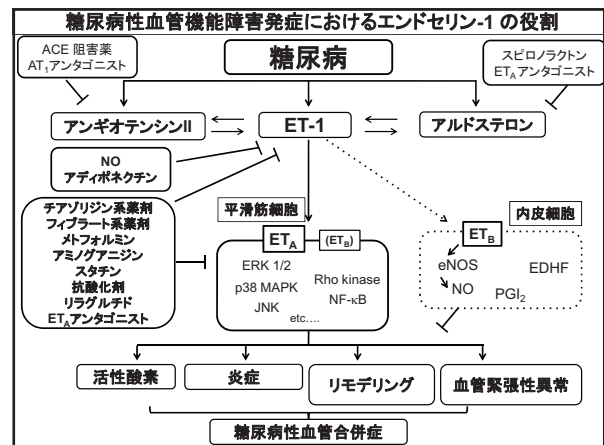


Figure 6. 糖尿病性血管機能障害発症における ET-1 の役割と治療薬との関連

多数報告されている。例えば、高血圧 (Kohno *et al.*, 1990, Saito *et al.*, 1990)、メタボリックシンドローム (Ferri *et al.*, 1997)、肺高血圧症 (Stewart *et al.*, 1991, Michel *et al.*, 2003)、腎不全 (Miyachi and Masaki, 1999)、心筋梗塞 (Miyachi *et al.*, 1989)、くも膜下出血 (Bellapart *et al.*, 2014) などである。糖尿病においても、1 型 (Collier *et al.*, 1992, Makino and Kamata, 1998)・2 型 (Kawamura *et al.*, 1992, Mangiafico *et al.*, 1998, Ak *et al.*, 2001) 共に血中 ET-1 量の増加が報告されている。Ak らは、血漿 ET-1 量が細小血管症、高血圧、疾患持続、家族歴と相関性があることを見出している (Ak *et al.*, 2001)。また、糖尿病患者 (微量アルブミン尿・正常血圧患者) において、血漿 ET-1 量の増加が認められ、ET-1 量と、アルブミン排泄率との相関性についても Bruno らは報告している (Bruno *et al.*, 2002)。また、ストレプトゾトシン (streptozotocin, STZ) 誘発糖尿病モデルの腸間膜動脈 (Takeda *et al.*, 1991)、2 型糖尿病モデル Goto-Kakizaki (GK) ラットの中大脳動脈 (MCA) (Harris *et al.*, 2005)、腸間膜動脈 (Matsumoto *et al.*, 2009, 2010) など、糖尿病病態時における組織レベルでの ET-1 増加も報告されている。これらのことから、ET-1 システムは、合併症治療への可能性として注目を浴びつつある。しかしながら、測定法の違いや病態・疾患の時期等の違いにより、一般化出来ないことも事実である。従って、スタンダードな測定法の確立、病態時期における包括的な理解が今後必要となるであろう。

ET 受容体としては、ET-1 及び ET-2 選択性の ET_A 受容体と、非選択性の ET_B 受容体の 2 種類が知られている (Masaki *et al.*, 1991, 後藤 2002, 栗原 2004, Goto *et al.*, 1996) (Figure 4)。前者は京都大学のグループ、後者は筑波大学のグループがクローニングし、1990 年の「Nature」誌に並んで掲載された (Arai *et al.*, 1990, Sakurai *et al.*, 1990)。共に、7 回膜貫通型の G タンパク質共役型受容体であり、ET_A 受容体は、主として G_{q/11} と共役し、phospholipase C (PLC) の活性化を介して細胞内カルシウム動員、protein kinase C (PKC) の活性化、Ras-Raf-MEK-ERK 系や PI3-kinase-Akt 系の活性化を引き起こすと考えられている (Masaki *et al.*, 1991, 後藤 2002, 栗原 2004, Goto *et al.*, 1996)。また、ET_A 受容体と ET-1 との結合は、Gi との共役を介した adenylyl cyclase 活性の抑制、G_{12/13} との共役を介した Rho の活性化を引き起こすことも知られており、これらの機序は ET-1 の血管収縮作用等にも関与すると考えられている (Masaki *et al.*, 1991, 後藤 2002, 栗原 2004, Goto *et al.*, 1996)。さらに、ヘパリン結合性上皮細胞成長因子 (HB-EGF) のプロセッシングを介する EGF 受容体活性化経路とのクロスト

クも知られており、Ras-Raf-MEK-ERK 系の活性化に寄与していると考えられている (Shah and Catt, 2003)。現在においても、ET-1 受容体を介する細胞内情報伝達機構及び、病態時におけるクロストーク変化の研究は、国内外において進められており、全容解明が待たれるところである。

3. 糖尿病時における ET-1 の血管反応異常と血管機能への影響

ET-1 は、強力な血管収縮ペプチドとして見出され、この血管収縮反応は、主として平滑筋細胞に存在する ET_A 受容体を介して引き起こされることが明らかとなっており、病態下においては、平滑筋細胞に ET_B 受容体が発現し収縮に寄与することも報告されている。また一方、内皮細胞に存在する ET_B 受容体を介して内皮由来弛緩因子を放出することで弛緩反応を惹起することも知られている (Miyachi and Masaki, 1999, Brunner *et al.*, 2006, Ergul 2011, Rodriguez-Pascual *et al.*, 2011, Pernow *et al.*, 2012)。これらのことから、種々の糖尿病モデル動物あるいは糖尿病患者における ET-1 の血管収縮反応・弛緩反応に関する報告が様々な部位の血管でなされている (Ergul 2011, Pernow *et al.*, 2012, Matsumoto *et al.*, 2014, Campia *et al.*, 2014)。ここでは、幾つかの部位の血管について述べる。

脳は、恒常的に多量の酸素とグルコースを必要とし、脳に僅かでも血流の障害が生じれば意識を失い、また、数分間の血流遮断でヒトは死に至る。そのため、脳循環は、非常に巧妙に調節されており、動脈の緊張性はその主要な調節機構の一つである。脳動脈緊張性調節は、筋原性、神経性、液性因子などによって行われている。これらの異常は、脳梗塞や、認知症やアルツハイマー病など神経変性疾患時の慢性循環障害と関係しており、糖尿病患者においてもしばしば認められる。脳血管においては、1 型糖尿病モデルラットやラビットの脳底動脈において、ET-1 による収縮反応の増大が報告され (Matsumoto *et al.*, 2004, Alabadi *et al.*, 2004)、また、Li らは (Li *et al.*, 2010) 2 型糖尿病モデル GK ラット脳底動脈においても ET-1 の感受性増大並びに内皮依存性弛緩反応の減弱を見出し、ET_A 受容体拮抗薬によって GK ラットにおける弛緩反応が改善されること、選択的 ET_B 受容体拮抗薬によって GK ラットにおいて逆に収縮反応が認められることを見出し、これらのことから、GK ラット脳底動脈においては、内皮のみならず平滑筋の ET_B 受容体も血管機能に関与している可能性を見出した。ET-1 は、血管収縮作用のみならず、血管リモデリングにも関与することが知られている (Murakoshi *et al.*, 2002, Amiri *et al.*, 2004, Ergul 2011)。血管リモデリングは、簡単に言うと、血行動態

変化や種々の刺激によって、血管の構造が変化することで、細胞レベルでは主として血管平滑筋細胞の増殖・肥大、遊走、アポトーシスなどの細胞死の結果によって起こる (Sonoyama *et al.*, 2007)。Ergul らのグループは、糖尿病時の MCA における血管リモデリングは、ET_A 受容体拮抗薬で部分的に改善することから、ET_A 受容体の関与を見出した (Harris *et al.*, 2005)。さらに、内皮細胞に存在する ET_B 受容体が MCA でのリモデリングに対し抑制的に働き、糖尿病時にはこの寄与が減弱すること、平滑筋細胞に存在する ET_B 受容体が促進的に働き、糖尿病時にはこの寄与が出現する可能性を薬理的検討によって明らかとし、これら受容体の血管リモデリングに対する寄与は、生理的条件下と、病態下 (糖尿病) において異なることを見出した (Kelly-Cobbs *et al.*, 2011)。

糖尿病網膜症は、神経症・腎症と共に糖尿病に特有な 3 大合併症の一つであり、我が国においては、成人の失明原因の第 1 位となっている。網膜は、眼底に存在する薄い神経の膜であり、ものを見る為に重要な役割を果たしている。網膜には、色・光を感じとる神経細胞が敷き詰められ、細かい血管が無数に張り巡らされている。この網膜血管が障害を受けると、変形したり、閉塞したりして、さらに虚血が生じその結果新しい血管 (新生血管) をつくりだして酸素不足を補おうとする。この新生血管はもろいため容易に出血を起し、これがさらに増殖組織を生み出し網膜機能に悪影響を及ぼすため、いかに新生血管形成を防ぐかが重要となる。網膜血管における ET-1 シグナルの関与も報告されている (Ergul 2011, Lam 2001)。網膜においては、内皮細胞のみならず、非血管細胞においても ET-1 が産生される (Lam 2001)。網膜血流は、自動調節能 (autoregulation) を備えているが、ET-1 はこれを障害し、過剰な還流圧を生み出し、網膜血管の網膜動脈瘤や浮腫を誘発することが報告されている (Kohner *et al.*, 1995, Pang and Yorio, 1997)。また一方、ET-1 による血管収縮は虚血状態を引き起こし、これが、糖尿病網膜症のトリガーとなる可能性も指摘されている。Deng らは、1 型糖尿病ラット網膜において、ET-1 と ET_A 受容体の up-regulation を見出し、さらに、dual ET_{A/B} 拮抗薬であるボセンタンによってこれらの異常が阻止されることを見出している (Deng *et al.*, 1999)。同様の結果は、2 型糖尿病モデルによっても報告されている (Chakrabarti *et al.*, 1998)。Wu らは、内皮細胞を用いて、グルコースによる ET-1 発現増大と MAPK ファミリーの ERK5 発現・活性低下を見出し、ERK5 活性を増加することでグルコース誘発 ET-1 発現が抑制されることを明らかにした。また、STZ 誘発糖尿病ラット網膜においても ET-1 発現増大と ERK5 発現低下を見出し、網膜 ET-1 発現に ERK5 が

関与する可能性を示唆した (Wu *et al.*, 2010)。Wang らは、ET_A 受容体拮抗薬であるアトラセンタンによって糖尿病誘発網膜血流減少が改善されることを明らかにしている (Wang *et al.*, 2010)。さらに Chou らは、アトラセンタンによって、糖尿病マウスモデル (*db/db* mouse) における網膜血管機能、網膜神経機能が改善されることを見出した (Chou *et al.*, 2014)。網膜症を発症している糖尿病患者においては、血中 ET-1 量が増加している報告があるが (Kawamura *et al.*, 1992)、また一方で増殖性網膜症患者の硝子体においては ET-1 レベルが低下しているという報告 (Ogata *et al.*, 1998) もあり、糖尿病網膜症における更なる ET-1 シグナルの解明と ET 受容体拮抗薬の有用性の検討が必要であると考えられる。

腸間膜動脈は抵抗血管に分類され、血圧調節に重要であるため、糖尿病時における腸間膜動脈の構造機能解析は多く研究されている。腸間膜動脈床還流標本を用いた初期の研究では、1 型糖尿病モデルにおいて、血中、組織 ET-1 レベルが増大し、ET-1 による収縮反応は、ET_A 受容体の脱感作によって減弱していると報告された (Makino and Kamata, 1998, 2000)。一方、別の標本を用いた研究においては、ET-1 の血管反応性・感受性は 1 型・2 型共に増強していることが報告されている (Arikawa *et al.*, 2006, Matsumoto *et al.*, 2009)。Ergul らのグループは、2 型糖尿病モデルである GK ラット腸間膜動脈において ET-1 による血管反応性の増強と acetylcholine (ACh) による NO 依存性の弛緩反応の減弱を見出している (Sachidanandam *et al.*, 2006)。我々も、GK ラット上腸間膜動脈において、ET-1 による収縮反応が増大していることを見出し、これには、内皮による ET_B 受容体を介した NO 産生の低下や、平滑筋における ERK1/2 活性増大が関与していることを報告している (Matsumoto *et al.*, 2009)。糖尿病病態時においては、腸間膜動脈における機能のみならず構造異常も起こっていることが知られている (Rumble *et al.*, 1997)。Gilbert らは、1 型糖尿病において、ボセンタン投与によって血管リモデリングや、マトリックス沈着、epidermal growth factor の減少を見出している (Gilbert *et al.*, 2000)。また、2 型糖尿病モデルにおいては、コラーゲン沈着増大に伴った中膜:内膜比の増大 (肥厚・血管リモデリング増大) は、ET_A 受容体拮抗によって阻害される一方、ET_B 受容体拮抗によって、中膜の更なる肥厚が引き起こされることを見出した。同様にコラーゲン沈着は、ET_A 受容体拮抗によって抑制されるが、ET_B 受容体拮抗によって増強されることを見出し、これらのことから、ET-1 は腸間膜動脈のリモデリングに関与し、これは主として ET_A 受容体を介するもので、ET_B 受容体は血管保護的に作用していることを明らかに

している (Ergul 2011)。従って、糖尿病病態時における腸間膜動脈の機能・構造 (リモデリング) においても、ET_A と ET_B 受容体のバランスが変化していることが示唆された。

糖尿病時の ET_A 及び ET_B 受容体の血管機能に対する寄与・役割は、モデル動物、疾患の程度、動脈部位によって異なることから、臨床的に個人個人の患者における ET-1 レベル、受容体発現レベルの包括的な理解が必要である。

4. 糖尿病治療薬および関連薬の血管機能への有益効果 ~ET-1 シグナルを中心に~

糖尿病治療において、血糖コントロールは疑いもない必至な目標であるが、動脈硬化性疾患をはじめ、糖尿病性血管合併症の発症の阻止も非常に重要な目標であると考えられる。2 型糖尿病の発症機序は症例によって異なり、複数の因子が複雑に絡み合い、さらにその病態は時々刻々と変動し難解であるため、病態生理を正しく読み取り血糖値を是正する最適な手段を駆使し、さらには相乗効果が得られるような併用療法を熟考して実践していく必要がある。糖尿病に対する薬物療法は、その作用点から、1) 内因性分泌インスリンの働きを亢進する薬 (メトホルミンや、ビオグリタゾン)、2) グルコース吸収遅延薬、糖質分解阻害薬 (α -グルコシダーゼ阻害薬)、3) インスリン分泌パターン改善薬 (グリニド薬)、4) インスリン分泌刺激薬 (SU 薬)、5) 腸管ホルモン、gastric inhibitory polypeptide (GIP) や glucagon-like peptide-1 (GLP-1) の血中濃度を保ち、そのインスリン分泌促進ならびにグルカゴン分泌抑制作用を介して血糖応答を改善する dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬、6) 外来性に GLP-1 を補充あるいは、GLP-1 受容体を刺激する薬、7) インスリン製剤に大別される。近年、これらの薬物は、その主作用のみならず、多面的な効果が報告され、更なる可能性について期待されている。ここでは、これら糖尿病治療薬及び関連薬物 (あるいは内在性物質) の中から、いくつかについて、糖尿病性血管障害への影響、特に ET-1 シグナルへの影響について述べる。

4.1 メトホルミン

ビグアナイド系薬物は、1950 年代に登場し、1977 年に重篤な乳酸アシドーシスの副作用によってフェンフォルミンが使用中止となって以来、我が国においては、ブホルミンとメトホルミンが細々と使用されていた。1990 年代に、メトホルミンの有効性及び乳酸アシドーシスの発現頻度が極めて低いことが米国より報告された (DeFrobo *et al.*, 1995)。これを受けて、世界的にメトホルミンの使用症例が増加し、今日では、ライフスタ

イルの改善と並んで、2 型糖尿病治療の基幹薬としての位置づけを確立している (益崎 2011, 武井 2008)。肝臓における糖新生の抑制作用に加え、骨格筋における糖の取り込み・利用の促進、脂肪組織における糖の取り込みの促進、消化管からの糖吸収の抑制作用など、多彩な作用があいまって血糖調節を改善する (益崎 2011, 武井 2008, Viollet *et al.*, 2012)。実際、メトホルミンは、その血糖降下作用のみならず血管に直接働きかけ、血管機能障害を是正することが報告されている。例えば、我々は、腸間膜動脈において内皮由来因子によるシグナルに異常 (すなわち、EDRF シグナルの障害、EDCF シグナルの亢進) を来している 2 型糖尿病モデルである Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットに対してメトホルミンを慢性投与したところ、EDCF シグナル (血管収縮性プロスタノイド産生、および収縮反応の抑制) 並びに内皮依存性弛緩反応の改善を見出した (Matsumoto *et al.*, 2008)。さらに、血管に直接メトホルミンおよび、メトホルミンによるシグナルに関与する AMP-activated protein kinase (AMPK) の活性化薬 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside (AICAR) 処置により、EDCF 産生・反応の抑制を見出した (Matsumoto *et al.*, 2008)。また、メトホルミンによる ET-1 シグナルへの影響に関して、幾つか報告がなされている。Sachidanandam らは (Sachidanandam *et al.*, 2009)、肥満を伴わない 2 型糖尿病モデル動物である GK ラットにメトホルミンを投与したところ、血管肥厚 (中膜・内膜比)、筋原性緊張 (myogenic tone)、コラーゲン合成異常の改善を見出した。また、メトホルミン投与動物において、血中 ET-1 量の低下、腸間膜動脈における ET_A 受容体発現量の低下を見出し、これらのことからメトホルミンは、血糖降下作用のみならず ET-1 シグナル改善によって血管リモデリングを抑制することを明らかにした。さらに Abdelsaid らは (Abdelsaid *et al.*, 2014a)、脳血管においてリモデリングや血管新生が起こっている GK ラット (18 週齢) に対して 4 週間メトホルミンあるいは、ET-1 受容体拮抗薬であるボセンタンを経口投与したところ、これらの薬物によって、リモデリングや血管新生が抑制されることを見出した。さらに彼らは、脳血管 (MCA) における収縮・弛緩反応についても解析し、ET-1 や 5-HT による収縮反応は、control 群と比較し糖尿病群で変化が認められなかったが、ACh による内皮依存性弛緩反応が減弱していることを見出した。これらの収縮・弛緩反応に対して、メトホルミンは影響を及ぼさなかったが、ボセンタンによって内皮依存性弛緩反応の部分的な改善を認めた (Abdelsaid *et al.*, 2014b)。これらのことから、脳血管における糖尿病性血管障害に対してメトホルミン、ET-1 受容体拮抗薬が有効である

可能性が示唆された。今後、これらを同時に投与した時における相乗効果や、メカニズムに関する更なる研究に期待したい。

4.2 チアゾリジン誘導体

チアゾリジン誘導体はインスリン抵抗性改善薬として開発され、現在我が国においては、インスリン抵抗性を伴う2型糖尿病の治療に第2世代のチアゾリジン誘導体であるピオグリタゾンが広く用いられている(仙田 2008, 山内 2011, Ahmadian *et al.*, 2013)。チアゾリジン誘導体は核内受容体のペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 γ (PPAR γ) を介して、脂肪細胞での脂肪酸の取り込み亢進や脂肪分解の抑制が起こり、血中遊離脂肪酸を低下することで、結果として肝臓や筋肉への遊離脂肪酸の流入が減少し、組織内中性脂肪含量が減少するため、肝臓や骨格筋における中性脂肪蓄積に起因するインスリン抵抗性を改善する。また、脂肪組織の質を改善することでもインスリン抵抗性改善に寄与している(仙田 2008, 山内 2011, Ahmadian *et al.*, 2013)。

PPAR γ は、血管にも存在し、様々な役割を果たしている。例えば、Delerive らは、血管内皮細胞において、PPAR γ リガンド処置によって、トロンピン誘発 ET-1 分泌が抑制されることを見出し、PPAR γ が、ET-1 発現に関わる転写因子 activator protein-1 (AP-1) を阻害することで、トロンピン誘発 ET-1 合成が抑制されることを明らかにした (Delerive *et al.*, 1999)。高血糖状態や糖尿病の血管においては、PPAR γ の発現・活性が低下していることが幾つかのモデル動物において報告され (Kanie *et al.*, 2003, Takenouchi *et al.*, 2010, Min *et al.*, 2010)、これが、血管機能障害に関連することも示唆されている。

このように、チアゾリジン誘導体はインスリン抵抗性を様々な組織で改善するが、血管においても有益な効果が報告されている (Matsumoto *et al.*, 2008, Duan *et al.*, 2008)。第2世代のチアゾリジン誘導体であるロシグリタゾン(日本国内未承認)は血管内皮細胞において、酸化 LDL (low-density lipoprotein) によって誘発される ET-1 分泌を抑制し (Martin-Nizard *et al.*, 2002)、血管平滑筋細胞において、ET-1 によって誘発される炎症惹起作用、すなわち転写因子である nuclear factor-kappa B (NF- κ B) の活性化、VCAM-1、ICAM や、cyclooxygenase (COX)-2 発現を抑制した (Montezano *et al.*, 2007)。Potenza らは (Potenza *et al.*, 2006) 内皮機能障害やインスリン抵抗性を呈する自然発症高血圧ラットにおいて、ロシグリタゾン投与によって、血中アディポネクチン量の増加、血中インスリン及び ET-1 量の低下、血圧低下、インスリン抵抗性が改善されることを見出した。チアゾリジン誘導体は、本来上述のよう

にインスリン抵抗性改善薬であるが、STZ 誘発糖尿病モデルを用いた糖尿病時におけるインスリン抵抗性改善以外の多面的効果を検討した報告もなされている。Majithiya らは STZ 誘発糖尿病モデルにピオグリタゾンを投与し、内皮依存性弛緩反応の改善と酸化ストレスの是正を見出している (Majithiya *et al.*, 2005)。また、Toba らはピオグリタゾンを投与した STZ 誘発糖尿病ラットにおいて、胸部大動脈における NAD(P)H oxidase 発現、VCAM-1 発現の低下、さらには、osteopontin 発現の低下や、アンギオテンシン変換酵素 (ACE) 発現の低下を見出している (Toba *et al.*, 2006)。Ashoff らは、ピオグリタゾン投与により、STZ 誘発糖尿病モデルで認められる微小循環形成異常を血糖コントロールや VEGF による血管新生とは異なる機序で抑制されることを見出している (Ashoff *et al.*, 2012)。我々は、STZ 誘発糖尿病ラット胸部大動脈においては、PPAR α 及び PPAR γ 発現の低下及び preproET-1 の増加、NAD(P)H oxidase 発現の増加、酸化ストレスの増加を見出していたので (Kanie *et al.*, 2003)、特に、この糖尿病モデル動物にピオグリタゾンを投与し、内皮機能と、ET-1 との関連について検討を行った (PPAR α アゴニストであるベザフィブラート慢性投与の成果については後述)。ピオグリタゾン投与による内皮機能障害の改善を見出し、これには、ET-1 の低下と酸化ストレスの低下が関与していることを見出した。ET-1 低下には、発現に関わる転写因子 AP-1 シグナル阻害が関与すること、酸化ストレス低下には、血管における主要な活性酸素産生源である NAD(P)H oxidase 活性の低下と活性酸素スカベンジャーである superoxide dismutase 活性の増加が関与していることを明らかにした (Matsumoto *et al.*, 2007) (Figure 7)。また、Nakamura らは (Nakamura *et al.*, 2000)、2 型糖尿

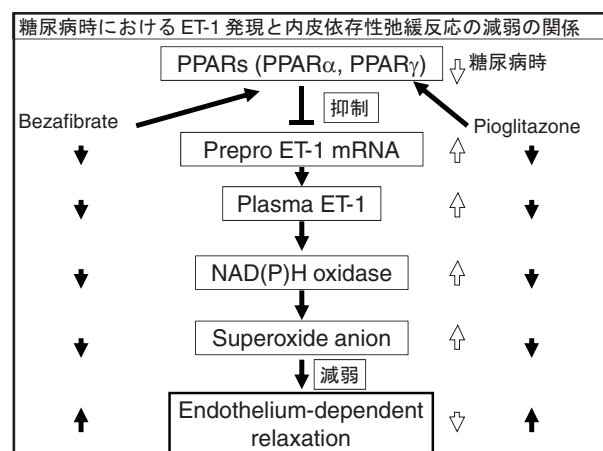


Figure 7. ストレプトゾチン誘発糖尿病ラット胸部大動脈内皮依存性弛緩反応障害における PPAR と ET-1 シグナルの作業仮説

病患者へのピオグリタゾン投与により尿中アルブミン排泄量及び尿中 ET-1 量が低下することを見出した。チアゾリジン誘導体は、その有益性と共に、心不全の発症・憎悪、循環血漿量の増加によると考えられる浮腫、体重増加などの副作用の問題もあるが (Ahmadian *et al.*, 2013)、今後こういった副作用の少ない新しいクラスの薬物の開発が待たれる。

4.3 インクレチン関連薬

インクレチン (incretin) とは、食餌摂取に伴って腸管から分泌され、インスリンの分泌を誘発する液性因子の総称である (高原 2011)。インクレチンは、インスリン分泌促進作用を有する消化管ホルモンであり、糖尿病治療に有効な血糖コントロール因子として注目されている (高原 2011, 山根 2011)。インクレチンとしては GLP-1 及び GIP が知られている。特に、GLP-1 は、インスリン分泌促進作用のみならず、グルカゴンの分泌抑制、摂食中枢に対する抑制、胃運動・胃酸分泌の抑制等、血糖降下に有利な多彩な生理作用を合わせ持つ (山根 2011)。しかしながら、インクレチンは、生体内に広範囲に発現している DPP-4 により即時的に分解され、数分間で活性を失う。従って、インクレチン関連薬剤としては、この DPP-4 を阻害する DPP-4 阻害薬と、DPP-4 によって分解されにくい GLP-1 受容体作動薬が開発されている。インクレチン関連薬の心血管系における作用についても明らかになりつつある。例えば、心不全モデル動物において、GLP-1 が心筋のグルコース取り込みを増加させると同時に左室機能を改善することが明らかにされ (Nikolaidis *et al.*, 2004)、また、虚血性心疾患モデル動物において GLP-1 が虚血性の障害領域を縮小させることも明らかにされている (Bose *et al.*, 2005)。ヒトにおいても、GLP-1 の投与によって急性心筋梗塞後の心機能が改善し (Nikolaidis *et al.*, 2004b)、糖尿病患者の血管内皮機能が改善した (Nistrom *et al.*, 2004) ことが報告されている。近年、Dai らは (Dai *et al.*, 2013) GLP-1 アゴニストであるリラグルチドがヒト臍帯静脈由来内皮細胞 (HUVEC) において、転写因子である NF- κ B の活性化を抑制することによって、ET-1 の発現を低下させることを見いだした。インクレチン療法は、近年 2 型糖尿病において脚光を浴びているが、今後さらなる ET-1 シグナルとの関連が明らかになることを期待したい。

4.4 その他 (関連疾患治療薬など)

糖尿病は、罹患が長期に及ぶと、全身性に障害を来すため、様々な疾患を併発する。脂質異常症や高血圧が主たる併発疾患であり、これらの治療薬と糖尿病性血管合併症との関連、ET-1 シグナルとの関連も検討がなされ

ている。また、糖尿病性血管機能障害に特異的に効果がある薬物・物質は特定されていないが、血管機能に有益な効果を有する物質も幾つか報告されているので、その一部に関して ET-1 シグナルとの関連を交えながら述べる。

スタチン [3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA (HMG-CoA) 還元酵素阻害薬] は、高脂血症治療薬として広く用いられている薬物である。スタチンは、脂質異常に対する効果以外に多面的な効果 (例えば酸化ストレス、炎症の抑制や、NO バイオアベイラビリティの増加など) を有することが知られている (Lefer *et al.*, 2001, Sirtori 2014)。糖尿病を合併した脂質異常症患者に対するスタチンの介入研究も多数報告されている (木庭 2011)。スタチンの ET-1 との関連も報告され、スタチン類は内皮細胞や平滑筋細胞において、ET-1 や、前駆体の prepro-ET-1 mRNA 発現を低下することが報告されている (Hernandez-Perera *et al.*, 1998, 2000, Mueck *et al.*, 1999, Ozaki *et al.*, 2001, Morikawa *et al.*, 2002, Ohkita *et al.*, 2006, Hisada *et al.*, 2012)。スタチンはまた、fibroblast growth factor によって誘導された ET_A 及び ET_B 受容体の upregulation を抑制することが報告されている (Xu *et al.*, 2002)。糖尿病時における異常な ET-1 シグナルをスタチンが正常化することも報告されている。Lee らは、アトロバスタチンの慢性投与は、糖尿病に関連した脂質異常の是正ではなく、ET-1 による細胞内 Ca²⁺ レベルの上昇、チロシンリン酸化を抑制することなどを介して冠動脈硬化を抑制することを見いだした (Lee *et al.*, 2003)。Nakamura らは、微量アルブミン尿及び脂質異常を併発している 2 型糖尿病患者に対してセリバスタチンを投与したところ、尿中アルブミン排泄及び循環 ET-1 レベルが低下することを見いだした (Nakamura *et al.*, 2001)。我々は、2 型糖尿病モデル動物である OLETF ラット胸部大動脈において、ET-1 による収縮反応が増大し、この機序として、protein phosphatase 2A (PP2A) 活性化後の kinase suppressor of Ras 1 (KSR1)/ERK 複合体の増加による可能性を見いだした (Nemoto *et al.*, 2012b)。この OLETF ラットに対してプラバスタチンを投与すると、ET-1 誘発収縮反応が是正すること、また、ET-1 による ERK 活性化 (リン酸化 KSR1、リン酸化 PP2A の正常レベルへの増加に関連した) を抑制することを見だし、プラバスタチンは、血管に直接的に働き、PP2A/KSR1/ERK 活性の抑制を介して ET-1 誘発収縮反応を正常化することを明らかとした (Nemoto *et al.*, 2012b)。今後さらに、ET-1 シグナルとスタチンの多面的作用・シグナルのクロストークが明らかとなれば、スタチンの糖尿病性血管合併症への有用性が益々高まると

考えられる。

中性脂肪を低下させるフィブラート系薬物は、PPAR α を活性化し、多面的効果を有することが知られ、心血管系への関与についても幾つか報告されている (Iglarz *et al.*, 2003, Irukayama-Tomobe *et al.*, 2004, Newaz *et al.*, 2005, Williams *et al.*, 2005)。ET-1 との関係についても、PPAR α の活性化がET-1産生を低下することが細胞や組織レベルで報告されている (Martin-Nizard *et al.*, 2002, Ogata *et al.*, 2002, Kandoussi *et al.*, 2002)。Yakubu らは、豚の脳微小血管内皮細胞において、PPAR α の活性化によりNO及びPKC依存的にET-1産生が抑制されることを明らかにしている (Yakubu *et al.*, 2007)。また、Bulhak らは、心筋虚血再還流障害に対して、PPAR α の活性化がNO産生の増加とET-1産生の低下を引き起こし、保護的な効果を示すことを明らかにしている (Bulhak *et al.*, 2006)。我々は、STZ 誘発糖尿病ラットに対してPPAR α 活性化薬のベザフィブラートを慢性投与することによって、胸部大動脈におけるACh誘発内皮依存性弛緩反応が改善されることを見いだした (Kanie *et al.*, 2003)。胸部大動脈におけるACh誘発内皮依存性弛緩反応は、NOが主要なEDRFであるが、本モデルの胸部大動脈においては、活性酸素が増大しこれによりNOのバイオアベイラビリティが低下することを明らかにしている (Kamata and Kobayashi, 1996, Kobayashi and Kamata, 1999, 2001)、血管における活性酸素産生源は、NADPH oxidase が主たるものであるが、この構成成分の一つ (p22^{phox}) がベザフィブラートで低下した。さらに、ET-1は、NADPH oxidaseの活性化を介して活性酸素を産生することが知られており (Kamata *et al.*, 2004, Lopez-Sepulveda *et al.*, 2011, Callera *et al.*, 2006)、ベザフィブラート投与により胸部大動脈におけるpreproET-1発現の低下が起こることから、ET-1の低下がNADPH oxidase活性の減弱を引き起こし、活性酸素が低下することによって、結果としてNOバイオアベイラビリティが改善するという作業仮説が考えられた (Figure 7)。本モデル胸部大動脈においては、前述のようにPPAR α 及び γ 発現が低下しており、これらの活性化がET-1シグナルを抑制して内皮依存性弛緩反応を改善することが明らかとなった (Figure 7)。

レニン-アンギオテンシン-アルドステロン系 (RAAS) は、主としてAng IIの作用を介して血圧調節に重要な役割を果たしており、RAAS活性化の増大は、高血圧を惹起し、さらに関連した臓器障害を引き起こすことが知られている (Paul *et al.*, 2006, Ruster and Wolf, 2006)。糖尿病時におけるRAASの異常、合併症発症・

進展への関与も指摘されている。Ang II type 1 receptor (AT1) antagonist (ARB) は、糖尿病性合併症 (腎症・網膜症・神経障害) に対して有益な効果が報告されている (Michel *et al.*, 2013)。ET-1とAng IIのクロストークの存在も指摘されている。例えば、Ang IIは、内皮細胞、平滑筋細胞、血管外膜の線維芽細胞において、preproET-1やET-1の発現を増加させることが知られている (Emori *et al.*, 1991, Hong *et al.*, 2004, An *et al.*, 2007)。また、ラットへのAng II投与により胸部大動脈におけるET-1量を増加し、これがARBのロサルタンで抑制されること (d'Uscio *et al.*, 1998) が報告されている。一方、ET-1は、肺動脈由来内皮細胞においてAng IからAng IIへの変換を促進すること (Kawaguchi *et al.*, 1990)、ET_A受容体拮抗薬によりAng IIによる血管収縮反応が抑制する (Wenzel *et al.*, 2001) ことなどが報告されている。これらのエビデンスから、RAASの抑制による糖尿病性血管合併症の是正にはET-1シグナルの改善が関係している可能性が考えられる。実際、我々は、2型糖尿病ラットであるGKラットにロサルタンを投与することで、腸間膜動脈におけるET-1収縮反応性の異常が是正されることを見だし、これには内皮機能の改善とERK活性の抑制が関与することを明らかにしている (Matsumoto *et al.*, 2010)。ロサルタンによる同様の効果は、高インスリン血症を伴う糖尿病モデルラットの胸部大動脈においても明らかにしている (Kobayashi *et al.*, 2008)。さらに、ACE阻害薬を投与した糖尿病患者において、血中ET-1量が低下することが報告されている (Iwase *et al.*, 2000, Schneider *et al.*, 2002)。糖尿病病態下におけるET-1シグナルとAng IIシグナルを同時に抑制することが合併症に有効であると考えられ実際にいくつか検討されている。例えば、Gagliardini らは糖尿病性腎症に対して選択的ET_A受容体拮抗薬とACE阻害薬の併用で腎症が寛解することを明らかにした (Gagliardini *et al.*, 2009)。Mohannan らは、腎心機能障害をもつ糖尿病・高血圧モデルであるobese Zucker spontaneously hypertensive fatty ratにおける高血圧と糖尿病性臓器障害がdual AT₁/ET_A受容体拮抗薬であるTRC120038投与で改善することを見だし、この効果は、ARBであるカンデサルタンと同等もしくはより有効であることを見いだした (Mohanan *et al.*, 2011)。TRC120038は、理論的には糖尿病性合併症に有効であるが、今後、安全性、毒性等を含め臨床応用への発展が期待される。いずれにせよ、糖尿病のステージ、臓器・血管へのダメージといった病態生理を理解した上で、これら二つのペプチドシグナルの同時抑制が、合併症に対して有効であろう。

RAASのうち、アルドステロンも内皮細胞、平滑筋

細胞などに作用することで血管機能に重要な影響を示す。たとえば、アルドステロンは、血管収縮、血管収縮因子の効果の増強、血管構成細胞の成長・リモデリングの誘導、炎症惹起作用や酸化ストレス誘導作用等の性質を示す (Struthers 2004, Schiffrin 2006)。このアルドステロンレベルも血中において 1 型 (Hollenberg *et al.*, 2004)、2 型 (Fredersdorf *et al.*, 2009) で増加していることが報告されている。基礎及び臨床研究から、血中アルドステロンレベルは、インスリン抵抗性の発症を予測するマーカーとなり得るもので、さらにアルドステロン自体が直接的に血管組織においてインスリンシグナルを阻害することが明らかとなっている (Bender *et al.*, 2013)。さらに、アルドステロンと、ET-1 のクロストークも明らかとなっている (Rossi *et al.*, 2001, Briet and Schiffrin, 2013)。例えば、Sprague Dawley (SD) ラットにおいて、アルドステロンは、血中 ET-1 量を増加し、血管リモデリングを誘導すること、このリモデリングは、ET_A 受容体拮抗薬で抑制されること (Pu *et al.*, 2003)、肺高血圧症における血管 ET-1 量の増加は、アルドステロンの循環量、組織量の増加と相關すること (Maron *et al.*, 2012)、加えて、アルドステロンを投与したラットにおいて、ET_A 受容体拮抗薬を投与すると、血圧上昇および、胸部大動脈、腸間膜抵抗血管における血管リモデリング・肥大が抑制されること (Park and Schiffrin, 2001) が報告されている。Fujisawa らは STZ 誘発糖尿病ラットに対してスピロノラクトン (アルドステロン受容体拮抗薬) を投与することで、腎におけるコラーゲン蓄積や、初期の腎障害を是正されることを見いだした (Fujisawa *et al.*, 2004)。STZ 誘発糖尿病ラットにおけるアルドステロンおよび ET-1 レベルの増大は、腎臓における Dot1a [Dot1 (disruptor of telomeric silencing) のスプライスバリエント] と ET-1 転写のネガティブレギュレーターである転写因子 Af9 の減少と関連し、スピロノラクトンは、Dot1a 及び Af9 発現を増加し、ET-1 発現を低下することを Zhou らは明らかとした (Zhou *et al.*, 2012)。これらのデータは、アルドステロン受容体拮抗薬が糖尿病性腎症の様な合併症に有効である可能性を示唆する (Heerspink and de Zeeuw, 2011)。ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬はアンドロゲン受容体の抑制に関連した副作用 (性機能障害、女性化乳房、女性化症など) を有するため (Abuannadi and O'Keefe, 2010, Funder 2013)、これら副作用を軽減あるいは無くすような新しいクラスの薬剤の開発が待たれる。

脂肪組織は、様々な物質を放出する内分泌組織と捉えられ、脂肪組織由来の生理活性タンパク質を総称してアディポカイン (アディポサイトカイン) と呼ばれている

(Yamawaki 2011, Yamauchi and Kadowaki, 2013)。生活習慣病病態時には、このアディポカインの量的質的变化が起こり、いわゆる善玉アディポカインとして捉えられているアディポネクチンの低下が糖尿病病態時に認められる (Xita and Tsatsoulis, 2012)。アディポネクチンは、血管機能に対して、多彩な血管保護的な作用を引き起こし (門脇 2008)、ET-1 シグナルとアディポカインとの関連についても報告されている。例えば、ET-1 がアディポネクチンの産生を低下させることが脂肪細胞で明らかにされている (Bedi *et al.*, 2006, Juan *et al.*, 2007)。さらに ET-1 レベルとアディポネクチンの負の相関が糖尿病患者において認められている (Mahadik *et al.*, 2013)。ET-1 は ERK シグナルを介してアディポネクチンの産生を低下すること (Nacci *et al.*, 2013)、ラット後肢還流標本における ET-1 による収縮反応にアディポネクチンが抑制すること (Bussey *et al.*, 2011)、STZ 誘発糖尿病ラットに対してアデノウイルスベクターを用いてアディポネクチンを強制発現させると、腎皮質における ET-1 や plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) 発現の低下を介して腎機能の改善を引き起こすこと (Nakamaki *et al.*, 2011) などが報告されている。このように、アディポネクチンは、ET-1 シグナルを抑制することから、糖尿病時における血管機能障害形成においてアディポネクチンは重要な役割を果たすと考えられる。しかしながら、他のアディポカインとの関係も含め今後の更なるエビデンスの構築が待たれる。

ポリフェノール類を含む機能性食品の摂取は、代謝異常や血管機能障害に対して有効であることが、疫学的研究から明らかにされている (Munir *et al.*, 2013, van Dam *et al.*, 2013, Taguchi *et al.*, 2014)。レスベラトロール (resveratrol) はスチルベノイドポリフェノールの一種であり、赤ワイン等に含まれる様々な有益作用が報告されており、血管系においても、弛緩反応、NO 合成酵素の産生増加、抗炎症作用等の多彩な作用が報告されている (Labinskyy *et al.*, 2006, Csiszar *et al.*, 2011, Wallerath *et al.*, 2002, Jimenez-Gomez *et al.*, 2013)。レスベラトロールの ET-1 シグナルへの影響に関しても、ET-1 自体の産生抑制や ET-1 による作用の抑制が報告されている (El-Mowafy *et al.*, 2009, Liu *et al.*, 2003, Lopez-Sepulveda *et al.*, 2011)。SIRT1 [sirtuin (silent mating type information regulation 2 homolog) 1] は、代謝経路やストレス抵抗性において重要な調節因子であり、内皮細胞において抗炎症・抗アポトーシス効果等を呈する。レスベラトロールは、内皮細胞において SIRT1 活性を高め (Schmitt *et al.*, 2010)、HUVEC を高血糖に曝した条件下においても、

レスベラトロールはSIRT1の発現及びインスリン刺激によるNO産生を増加させることが見出された (Yang *et al.*, 2010)。また、緑茶ポリフェノール、特に最も多く含まれるカテキンであるエピガロカテキンガレート (EGCG) は、心血管系、代謝の健康維持に有益な効果を有するというエビデンスも構築されつつある (Babu and Liu, 2008)。EGCGは、内皮細胞や血管平滑筋細胞において、抗増殖作用、抗炎症作用等を示し (Wang *et al.*, 2010, Yang *et al.*, 2013)、ET-1シグナルとの関連も検討されている。Reiterらは、EGCGは、内皮細胞におけるET-1の発現・遊離を低下することを明らかにし、これには、AktやAMPK活性化によりET-1プロモータにおいてFOXO1 (forkhead box protein O1) がリン酸化されることでその転写活性が抑制されることが関与することを見いだした (Reiter *et al.*, 2010)。また、Wangらは、EGCGがROS産生を抑制することによってET-1誘発CRP発現を阻害することを見だし、EGCGがET-1作用を阻害することを明らかにした (Wang *et al.*, 2010)。また、我々は、慢性2型糖尿病モデルラットに対して長期間EGCGを投与することによって、大血管におけるET-1収縮が抑制されることを見いだした (Matsumoto *et al.*, 2014)。EGCGのET-1収縮抑制作用には、内皮機能の改善が関与している可能性を示唆したが、詳細な分子メカニズムに関しては今後の研究に期待したい。いずれにせよ、これらの報告から、ポリフェノールなどの機能性食品摂取が糖尿病病態下におけるET-1システム是正を介した血管機能改善あるいは血管障害予防に重要である可能性が示唆され、今後さらなるエビデンスの構築が必要である。

5. ET受容体拮抗薬の糖尿病性血管合併症に対する治療への可能性

これまで述べてきたように、ET-1は、心血管系において多彩な作用を呈し、様々な疾患に関与していることが示唆されていることから、ET-1シグナルを抑制するようなET受容体拮抗薬等が治療に有効である可能性は、ET-1発見当初から考えられていた。実際、ET受容体拮抗薬が糖尿病性血管障害に有効である可能性が示唆さ

れている (Kanie and Kamata, 2002, Ergul 2011, Pernow *et al.*, 2012, Mather 2013, Matsumoto *et al.*, 2014)。例えば、STZ誘発糖尿病モデルに対して、経口投与可能なET_{A/B} dual antagonistであるJ-104132を投与したところ、NADPH oxidase 構成蛋白p22^{phox}の低下、活性酸素産生の低下によって胸部大動脈における内皮依存性弛緩反応の改善が報告された (Kanie and Kamata, 2002)。

現在では、ET受容体拮抗薬は、肺動脈性肺高血圧症において臨床的に使用されており、糖尿病患者に対して有効であるかどうかというエビデンスは構築されていない。2型糖尿病患者で糖尿病性腎症に対してET受容体拮抗薬であるアボセンタンを投与したASCEND試験においては、アボセンタン投与群で、体液貯留が原因と考えられる鬱血性心不全が高率で発症したため、予定より早期の中止となった (Mann *et al.*, 2010)。この試験において特に、アボセンタン投与後の早期段階で体重増加が認められた患者や、スタチンを服用している患者で鬱血性心不全のリスクが増大することが明らかとなった (Hoekman *et al.*, 2014)。今後、これら副作用を無くすような新しいクラスの薬剤の開発が待たれる。

6. おわりに

糖尿病は、我が国において最も関心のある疾患の一つであり、その病態形成、合併症の発症・進展の分子メカニズムは非常に複雑である。糖尿病治療の戦略は、ここ数十年で劇的に進歩し、以前と比較してある程度、合併症の発症進展を遅らせることが出来ていると考えられるが、完全に抑止するに至っていないのが現状である。糖尿病性血管合併症の発症・進展において血糖の上昇がイニシャルファクターとして考えられるが、ET-1シグナル異常もこれに関与していることが考えられる。もちろん、単にET-1シグナルを是正したのみで糖尿病性血管合併症の発症進展を完全に抑止することは難しいと思われるが、今後、糖尿病患者のステータス (罹患期間、血管合併症の有無) に応じたETシグナルの関与におけるエビデンスの構築、並びに副作用のない血管特異的なETシグナル改善薬の開発が待たれる。

参考文献

- 1) Akalin S, Berntorp K, Ceriello A, Das AK, Kilpatrick ES, Koblik T, Munichoodappa CS, Pan CY, Rosenthal W, Shestakova M, Wolnik B, Woo V, Yang WY, Yilmaz MT; Global Task Force on Glycaemic Control. Intensive glucose therapy and clinical implications of recent data: a consensus statement from the Global Task Force on Glycaemic Control. *Int J Clin Pract.* **63**, 1421-1425 (2009).
- 2) Stettler C, Allemann S, Juni P, Cull CA, Holman RR, Egger M, Krahenbuhl S, Diem P. Glycemic control and macrovascular disease in type 1 and 2 diabetes mellitus: Meta-analysis of randomized trials. *Am Heart J.* **152**, 27-38 (2006).
- 3) Skyler JS, Bergenstal R, Bonow RO, Buse J, Deedwania P, Gale EA, Howard BV, Kirkman MS, Kosiborod M, Reaven P, Sherwin RS; American Diabetes Association; American College of Cardiology Foundation; American Heart

- Association. Intensive glycemic control and the prevention of cardiovascular events: implications of the ACCORD, ADVANCE, and VA diabetes trials: a position statement of the American Diabetes Association and a scientific statement of the American College of Cardiology Foundation and the American Heart Association. *Diabetes Care*. **32**, 187-192 (2009).
- 4) Brown A, Reynolds LR, Bruemmer D. Intensive glycemic control and cardiovascular disease: an update. *Nat Rev Cardiol*. **7**, 369-375 (2010).
 - 5) Macisaac RJ, Jerums G. Intensive glucose control and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. *Heart Lung Circ*. **20**, 647-654 (2011).
 - 6) Tandon N, Ali MK, Narayan KM. Pharmacologic prevention of microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus: implications of the results of recent clinical trials in type 2 diabetes. *Am J Cardiovasc Drugs*. **12**, 7-22 (2012).
 - 7) Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J*. **34**, 2436-2443 (2013).
 - 8) Roberts AC, Porter KE. Cellular and molecular mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes. *Diab Vasc Dis Res*. **10**, 472-482 (2013).
 - 9) Michiels C. Endothelial cell functions. *J Cell Physiol*. **196**, 430-443 (2003).
 - 10) Pries AR, Kuebler WM. Normal endothelium. *Handb Exp Pharmacol*. (**176 Pt1**), 1-40 (2006).
 - 11) Feletou M. The Endothelium: Part 1: Multiple Functions of the Endothelial Cells-Focus on Endothelium-Derived Vasoactive Mediators. *San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences*. (2011).
 - 12) Triggle CR, Samuel SM, Ravishankar S, Marei I, Arunachalam G, Ding H. The endothelium: influencing vascular smooth muscle in many ways. *Can J Physiol Pharmacol*. **90**, 713-738 (2012).
 - 13) Favero G, Paganelli C, Buffoli B, Rodella LF, Rezzani R. Endothelium and its alteration in cardiovascular disease: life style intervention. *Biomed Res Int*. **2014**, 801896 (2014).
 - 14) 佐久間一郎: NO. *Vascular Biology ナビゲータ* (丸山征郎、安藤譲二、佐藤靖史 編集) 50-51 (2001).
 - 15) Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation*. **108**, 2054-2059 (2003).
 - 16) Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*. **87**, 315-424 (2007).
 - 17) Balligand JL, Feron O, Dessy C. eNOS activation by physical forces: from short-term regulation of contraction to chronic remodeling of cardiovascular tissues. *Physiol Rev*. **89**, 481-534 (2009).
 - 18) Forstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. **33**, 829-837 (2012).
 - 19) Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. **27**, 373-376 (1980).
 - 20) Okamura T. EDRF. *Nihon Rinsho*. **64 Suppl 5**, 244-248 (2006).
 - 21) Feletou M, Kohler R, Vanhoutte PM. Nitric oxide: orchestrator of endothelium-dependent responses. *Ann Med*. **44**, 694-716 (2012).
 - 22) Bryan RM Jr, You J, Golding EM, Marrelli SP. Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a cousin to nitric oxide and prostacyclin. *Anesthesiology*. **102**, 1261-1277 (2005).
 - 23) Edwards G, Feletou M, Weston AH. Endothelium-derived hyperpolarizing factors and associated pathways: a synopsis. *Pflugers Arch*. **459**, 863-879 (2010).
 - 24) Matsumoto T. Therapeutic target for endothelium-derived hyperpolarizing factor signaling in diabetic vascular complication. *Yakugaku Zasshi*. **130**, 777-784 (2010).
 - 25) Feletou M. The Endothelium: Part 2: EDHF-Mediated Responses "The Classical Pathway". *San Rafael (CA)*. Morgan & Claypool Life Sciences Publisher (2011).
 - 26) Tang EH, Vanhoutte PM. Prostanoids and reactive oxygen species: team players in endothelium-dependent contractions. *Pharmacol Ther*. **122**, 140-149 (2009).
 - 27) Feletou M, Huang Y, Vanhoutte PM. Endothelium-mediated control of vascular tone: COX-1 and COX-2 products. *Br J Pharmacol*. **164**, 894-912 (2011).
 - 28) Matsumoto T, Tostes RC, Webb RC. The role of uridine adenosine tetraphosphate in the vascular system. *Adv Pharmacol Sci*. **2011**, 435132 (2011).
 - 29) De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol*. **130**, 963-974 (2000).
 - 30) Kobayashi T, Matsumoto T, Kamata K. Endothelial dysfunction in diabetic animal models. *J Smooth Muscle Res*. **8**, J49-J63 (2004).
 - 31) 松本貴之、小林恒雄、鎌田勝雄. 糖尿病性細小血管障害の治療戦略. *日本薬理学雑誌*. **131**, 78-84 (2008).
 - 32) Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev*. **93**, 137-188 (2013).
 - 33) Sena CM, Pereira AM, Seica R. Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease. *Biochim Biophys Acta*. **1832**, 2216-2231 (2013).
 - 34) Carrillo-Sepulveda MA, Matsumoto T, Nunes KP, Webb RC. Therapeutic implications of peptide interactions with G-protein-coupled receptors in diabetic vasculopathy. *Acta Physiol*. **211**, 20-35 (2014).

- 35) Porter KE, Riches K. The vascular smooth muscle cell: a therapeutic target in Type 2 diabetes? *Clin Sci*. **125**, 167-182 (2013).
- 36) Gouloupoulou S, Webb RC. Symphony of vascular contraction: how smooth muscle cells lose harmony to signal increased vascular resistance in hypertension. *Hypertension*. **63**, e33-e39 (2014).
- 37) Brunner F, Bras-Silva C, Cerdeira AS, Leite-Moreira AF. Cardiovascular endothelins: essential regulators of cardiovascular homeostasis. *Pharmacol Ther* **111**, 508-531 (2006).
- 38) Ergul A. Endothelin-1 and diabetic complications: focus on the vasculature. *Pharmacol Res*. **63**, 477-482 (2011).
- 39) Rodriguez-Pascual F, Busnadiego O, Lagares D, Lamas S. Role of endothelin in the cardiovascular system. *Pharmacol Res*. **63**, 463-472 (2011).
- 40) Pernow J, Shemyakin A, Bohm F. New perspectives on endothelin-1 in atherosclerosis and diabetes mellitus. *Life Sci*. **91**, 507-516 (2012).
- 41) Matsumoto T, Lopes RA, Taguchi K, Kobayashi T, Tostes RC. Linking the beneficial effects of current therapeutic approaches in diabetes to the vascular endothelin system. *Life Sci*. **in press** (2014).
- 42) Campia U, Tesaro M, Di Daniele N, Cardillo C. The vascular endothelin system in obesity and type 2 diabetes: Pathophysiology and therapeutic implications. *Life Sci*. **in press** (2014).
- 43) Lam HC. Role of endothelin in diabetic vascular complications. *Endocrine*. **14**, 277-284 (2001).
- 44) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. **332**, 411-415 (1988).
- 45) 眞崎知生 くすりの種探し - 血管内皮と病気 講談社サイエンティフィック 2004 年.
- 46) Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K, Masaki T. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci USA*. **86**, 2863-2867 (1989).
- 47) 栗原裕基: エンドセリン. *Vascular Biology ナビゲータ* (丸山征郎、安藤譲二、佐藤靖史 編集) 62-63 (2001).
- 48) Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell*. **78**, 473-485 (1994).
- 49) Webb DJ, Monge JC, Rabelink TJ, Yanagisawa M. Endothelin: new discoveries and rapid progress in the clinic. *Trends Pharmacol Sci*. **19**, 5-8 (1998).
- 50) Miyauchi T, Masaki T. Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system *Annu Rev Physiol*. **61**, 391-415 (1999).
- 51) Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Sudano I, Magagna A, Salvetti A. Role of endothelin in the control of peripheral vascular tone in human hypertension. *Heart Fail Rev*. **6**, 277-285 (2001).
- 52) Bohm F, Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. **76**, 8-18 (2007).
- 53) McEniery CM, Qasem A, Schmitt M, Avolio AP, Cockcroft JR, Wilkinson IB. Endothelin-1 regulates arterial pulse wave velocity in vivo. *J Am Coll Cardiol*. **42**, 1975-1981 (2003).
- 54) Iemitsu M, Maeda S, Otsuki T, Sugawara J, Tanabe T, Jesmin S, Kuno S, Ajisaka R, Miyauchi T, Matsuda M. Polymorphism in endothelin-related genes limits exercise-induced decreases in arterial stiffness in older subjects. *Hypertension*. **47**, 928-936 (2006).
- 55) Dhaun N, MacIntyre IM, Kerr D, Melville V, Johnston NR, Haughie S, Goddard J, Webb DJ. Selective endothelin-A receptor antagonism reduces proteinuria, blood pressure, and arterial stiffness in chronic proteinuric kidney disease. *Hypertension*. **57**, 772-729 (2011).
- 56) Chade AR, Stewart NJ, Peavy PR. Disparate effects of single endothelin-A and -B receptor blocker therapy on the progression of renal injury in advanced renovascular disease. *Kidney Int*. **85**, 833-844 (2014).
- 57) Nasser SA, El-Mas MM. Endothelin ETA receptor antagonism in cardiovascular disease. *Eur J Pharmacol*. **737**, 210-213 (2014).
- 58) Kohan DE, Barton M. Endothelin and endothelin antagonists in chronic kidney disease. *Kidney Int*. **in press** (2014).
- 59) Freeman BD, Machado FS, Tanowitz HB, Desruisseaux MS. Endothelin-1 and its role in the pathogenesis of infectious diseases. *Life Sci*. **in press** (2014).
- 60) Kurihara H, Kurihara Y, Nagai R, Yazaki Y. Endothelin and neural crest development. *Cell Mol Biol*. **45**, 639-651 (1999).
- 61) Sessa WC, Kaw S, Hecker M, Vane JR. The biosynthesis of endothelin-1 by human polymorphonuclear leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. **174**, 613-618 (1991).
- 62) Ehrenreich H, Anderson RW, Fox CH, Rieckmann P, Hoffman GS, Travis WD, Coligan JE, Kehrl JH, Fauci AS. Endothelins, peptides with potent vasoactive properties, are produced by human macrophages. *J Exp Med*. **172**, 1741-1748 (1990).
- 63) Ito H, Hirata Y, Adachi S, Tanaka M, Tsujino M, Koike A, Nogami A, Murumo F, Hiroe M. Endothelin-1 is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin II-induced hypertrophy in cultured rat cardiomyocytes. *J Clin Invest*. **92**, 398-403 (1993).
- 64) Kohno M, Yasunari K, Murakawa K, Yokokawa K, Horio T, Fukui T, Takeda T. Plasma immunoreactive endothelin in essential hypertension. *Am J Med*. **88**, 614-618 (1990).

- 65) Saito Y, Nakao K, Mukoyama M, Imura H. Increased plasma endothelin level in patients with essential hypertension. *N Engl J Med.* **322**, 205 (1990).
- 66) Ferri C, Bellini C, Desideri G, Baldoncini R, Properzi G, Santucci A, De Mattia G. Circulating endothelin-1 levels in obese patients with the metabolic syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* **105 Suppl 2**, 38-40 (1997).
- 67) Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? *Ann Intern Med.* **114**, 464-469 (1991).
- 68) Michel RP, Langleben D, Dupuis J. The endothelin system in pulmonary hypertension. *Can J Physiol Pharmacol.* **81**, 542-554 (2003).
- 69) Miyauchi T, Yanagisawa M, Tomizawa T, Sugishita Y, Suzuki N, Fujino M, Ajisaka R, Goto K, Masaki T. Increased plasma concentrations of endothelin-1 and big endothelin-1 in acute myocardial infarction. *Lancet.* **2**, 53-54 (1989).
- 70) Bellapart J, Jones L, Bandeshe H, Boots R. Plasma endothelin-1 as screening marker for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care* **20**, 77-83 (2014).
- 71) Collier A, Leach JP, McLellan A, Jardine A, Morton JJ, Small M. Plasma endothelin-like immunoreactivity levels in IDDM patients with mucroalbuminuria. *Diabetic Care.* **15**, 1038-1040 (1992).
- 72) Makino A, Kamata K. Elevated plasma endothelin-1 level in streptozotocin-induced diabetic rats and responsiveness of the mesenteric arterial bed to endothelin-1. *Br J Pharmacol.* **123**, 1065-1072 (1998).
- 73) Kawamura M, Ohgawara H, Naruse M, Suzuki N, Iwasaki N, Naruse K, Hori S, Demura H, Omori Y. Increased plasma endothelin in NIDDM patients with retinopathy. *Diabetes Care.* **15**, 1396-1397 (1992).
- 74) Mangiafico RA, Malatino LS, Santonocito M, Spada RS. Plasma endothelin-1 concentrations in non-insulin-dependent diabetes mellitus and nondiabetic patients with chronic arterial obstructive disease of the lower limbs. *Int Angiol.* **17**, 97-102 (1998).
- 75) Ak G, Buyukberber S, Sevinc A, Turk HM, Ates M, Sari R, Savli H, Cigli A. The relation between plasma endothelin-1 levels and metabolic control, risk factors, treatment modalities, and diabetic microangiopathy in patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* **15**, 150-157 (2001).
- 76) Bruno CM, Meli S, Marcinno M, Ierna D, Sciacca C, Neri S. Plasma endothelin-1 levels and albumin excretion rate in normotensive, microalbuminuric type 2 diabetic patients. *J Biol Regul Homeost Agents.* **16**, 114-117 (2002).
- 77) Takeda Y, Miyamori I, Yoneda T, Takeda R. Production of endothelin-1 from the mesenteric arteries of streptozotocin induced diabetic rats. *Life Sci.* **48**, 2553-2556 (1991).
- 78) Harris AK, Hutchinson JR, Sachidanandam K, Johnson MH, Dorrance AM, Stepp DW, Fagan SC, Ergul A. Type 2 diabetes causes remodeling of cerebrovasculature via differential regulation of matrix metalloproteinases and collagen synthesis: role of endothelin-1. *Diabetes.* **54**, 2638-2644 (2005).
- 79) Matsumoto T, Ishida K, Nakayama N, Kobayashi T, Kamata K. Involvement of NO and MEK/ERK pathway in enhancement of endothelin-1-induced mesenteric artery contraction in later-stage type 2 diabetic Goto-Kakizaki rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* **296**, H1388-H1397 (2009).
- 80) Matsumoto T, Ishida K, Taguchi K, Kobayashi T, Kamata K. Short-term angiotensin-1 receptor antagonism in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats normalizes endothelin-1-induced mesenteric artery contraction. *Peptides.* **31**, 609-617 (2010).
- 81) Masaki T, Kimura S, Yanagisawa M, Goto K. Molecular and cellular mechanism of endothelin regulation. Implications for vascular function. *Circulation.* **84**, 1457-1468 (1991).
- 82) 後藤勝年: III 受容体と臨床 11. 循環系疾患とエンドセリン受容体. 薬物受容体と疾患 (宮崎瑞夫 編集) 172-184 (2002).
- 83) 栗原裕基: エンドセリン. 別冊・医学のあゆみ 糖尿病・代謝症候群 state of arts (門脇孝 小川佳宏 下村伊一郎 編集) 356-358 (2004).
- 84) Goto K, Hama H, Kasuya Y. Molecular pharmacology and pathophysiological significance of endothelin. *Jpn J Pharmacol.* **72**, 261-290 (1996).
- 85) Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature.* **348**, 730-732 (1990).
- 86) Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature.* **348**, 732-735 (1990).
- 87) Shah BH, Catt KJ. A central role of EGF receptor transactivation in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Trends Pharmacol Sci.* **24**, 239-244 (2003).
- 88) Matsumoto T, Yoshiyama S, Kobayashi T, Kamata K. Mechanisms underlying enhanced contractile response to endothelin-1 in diabetic rat basilar artery. *Peptides.* **25**, 1985-1994 (2004).
- 89) Alabadi JA, Miranda FJ, Llorens S, Centeno JM, Marrachelli VG, Alborch E. Mechanisms underlying diabetes enhancement of endothelin-1-induced contraction in rabbit basilar artery. *Eur J Pharmacol.* **486**, 289-296 (2004).
- 90) Li W, Sachidanandam K, Ergul A. Comparison of selective versus dual endothelin receptor antagonism on cerebrovascular dysfunction in diabetes. *Neurol Res.* **33**, 185-191 (2010).
- 91) Murakoshi N, Miyauchi T, Kakinuma Y, Ohuchi T, Goto K, Yanagisawa M, Yamaguchi I. Vascular endothelin-B receptor system in vivo plays a favorable inhibitory role in vascular remodeling after injury revealed by endothelin-B receptor-knockout mice. *Circulation.* **106**, 1991-1998 (2002).
- 92) Amiri F, Virdis A, Neves MF, Iglarz M, Seidah NG, Touyz RM, Reudelhuber TL, Schiffrin EL. Endothelium-restricted overexpression of human endothelin-1 causes vascular remodeling and endothelial dysfunction. *Circulation.*

- 110**, 2233-2240 (2004).
- 93) Sonoyama K, Greenstein A, Price A, Khavandi K, Heagerty T. Vascular remodeling: implications for small artery function and target organ damage. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* **1**, 129-137 (2007).
 - 94) Harris AK, Hutchinson JR, Sachidanandam K, Johnson MH, Dorrance AM, Stepp DW, Fagan SC, Ergul A. Type 2 diabetes causes remodeling of cerebrovasculature via differential regulation of matrix metalloproteinases and collagen synthesis: role of endothelin-1. *Diabetes.* **54**, 2638-2644 (2005).
 - 95) Kelly-Cobbs AI, Harris AK, Elgebaly MM, Li W, Sachidanandam K, Portik-Dobos V, Johnson M, Ergul A. Endothelial endothelin B receptor-mediated prevention of cerebrovascular remodeling is attenuated in diabetes because of up-regulation of smooth muscle endothelin receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* **337**, 9-15 (2011).
 - 96) Kohner EM, Patel V, Rassam SM. Role of blood flow and impaired autoregulation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes.* **44**, 603-607 (1995).
 - 97) Pang IH, Yorio T. Ocular actions of endothelins. *Proc Soc Exp Biol Med.* **215**, 21-34 (1997).
 - 98) Deng DX, Evans T, Mukherjee K, Downey D, Chakrabarti S. Diabetes-induced vascular dysfunction in the retina: role of endothelin. *Diabetologia.* **42**, 1228-1234 (1999).
 - 99) Chakrabarti S, Gan X, Merry A, Karamzyn M, Sima A. Augmented retinal endothelin-1, endothelin-3, endothelinA and endothelinB gene expression in chronic diabetes. *Curr Eye Res.* **17**, 301-307 (1998).
 - 100) Wu Y, Feng B, Chen S, Zuo Y, Chakrabarti S. Glucose-induced endothelin-1 expression is regulated by ERK5 in the endothelial cells and retina of diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol.* **88**, 607-615 (2010).
 - 101) Wang Z, Yadav AS, Leskova W, Harris NR. Attenuation of streptozotocin-induced microvascular changes in the mouse retina with the endothelin receptor A antagonist atrasentan. *Exp Eye Res.* **91**, 670-675 (2010).
 - 102) Chou JC, Rollins SD, Ye M, Battle D, Fawzi AA. Endothelin receptor-A antagonist attenuates retinal vascular and neuroretinal pathology in diabetic mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* **55**, 2516-2525 (2014).
 - 103) Ogata M, Naruse M, Iwasaki N, Katoh S, Ohta Y, Hori S, Demura H, Iwamoto Y. Immunoreactive endothelin levels in the vitreous fluid are decreased in diabetic patients with proliferative retinopathy. *J Cardiovasc Pharmacol.* **31**, S378-379 (1998).
 - 104) Makino A, Kamata K. Time-course changes in plasma endothelin-1 and its effects on the mesenteric arterial bed in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Obes Metab.* **2**, 47-55 (2000).
 - 105) Makino A, Kamata K. Elevated plasma endothelin-1 level in streptozotocin-induced diabetic rats and responsiveness of the mesenteric arterial bed to endothelin-1. *Br J Pharmacol.* **123**, 1065-1072 (1998).
 - 106) Arikawa E, Cheung C, Sekirov I, Battell ML, Yuen VG, McNeill JH. Effects of endothelin receptor blockade on hypervasoreactivity in streptozotocin-diabetic rats: vessel-specific involvement of thromboxane A2. *Can J Physiol Pharmacol.* **84**, 823-833 (2006).
 - 107) Sachidanandam K, Harris A, Hutchinson J, Ergul A. Microvascular versus macrovascular dysfunction in type 2 diabetes: differences in contractile responses to endothelin-1. *Exp Biol Med.* **231**, 1016-1021 (2006).
 - 108) Rumble JR, Cooper ME, Cox AJ, Soulis T, Wu L, Youssef S, Jasik M, Jerums G, Gilbert RE. Vascular hypertrophy in experimental diabetes. Role of advanced glycation end products. *J Clin Invest.* **99**, 1016-1027 (1997).
 - 109) Gilbert RE, Rumble JR, Cao Z, Cox AJ, van Eeden P, Allen TJ, Kelly DJ, Cooper ME. Endothelin receptor antagonism ameliorates mast cell infiltration, vascular hypertrophy, and epidermal growth factor expression in experimental diabetes. *Circ Res.* **86**, 158-165 (2000).
 - 110) DeFronzo RA, Goodman AM. Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. The Multicenter Metformin Study Group. *N Engl J Med.* **333**, 541-549 (1995).
 - 111) 益崎裕章, 山川研, 池間朋己, 島袋充生: 糖尿病治療薬としての作用機序と特性, 付加価値 2. メトホルミン. 月刊糖尿病 糖尿病治療ハンドブック (河盛隆造 編集) **3**, 20-24 (2011).
 - 112) 武井泉: ビグアナイド薬 (メトホルミン). 糖尿病治療のエビデンス (田嶋尚子, 及川眞一編集) 80-87 (2008).
 - 113) Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci.* **122**, 253-270 (2012).
 - 114) Matsumoto T, Noguchi E, Ishida K, Kobayashi T, Yamada N, Kamata K. Metformin normalizes endothelial function by suppressing vasoconstrictor prostanoids in mesenteric arteries from OLETF rats, a model of type 2 diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* **295**, H1165-H1176 (2008).
 - 115) Sachidanandam K, Hutchinson JR, Elgebaly MM, Mezzetti EM, Dorrance AM, Motamed K, Ergul A. Glycemic control prevents microvascular remodeling and increased tone in type 2 diabetes: link to endothelin-1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* **296**, R952-R959 (2009).
 - 116) Abdelsaid M, Kaczmarek J, Coucha M, Ergul A. Dual endothelin receptor antagonism with bosentan reverses established vascular remodeling and dysfunctional angiogenesis in diabetic rats: Relevance to glycemic control. *Life Sci. in press* (2014a).
 - 117) Abdelsaid M, Ma H, Coucha M, Ergul A. Late dual endothelin receptor blockade with bosentan restores impaired cerebrovascular function in diabetes. *Life Sci. in press* (2014b).
 - 118) 仙田聡子, 浦風雅春, 戸辺一之, 小林正: チアゾリジン誘導体. 糖尿病治療のエビデンス (田嶋尚子, 及川眞一編集) 88-92 (2008).
 - 119) 山内敏正, 門脇孝: 糖尿病治療薬としての作用機序と特性, 付加価値 3. ビオグリタゾン. 月刊糖尿病 糖尿病治療ハンドブック (河盛隆造 編集) **3**, 25-29 (2011).

- 120) Ahmadian M, Suh JM, Hah N, Liddle C, Atkins AR, Downes M, Evans RM. PPAR signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nat Med* **19**, 557-566 (2013).
- 121) Delerive P, Martin-Nizard F, Chinetti G, Trottein F, Fruchart JC, Najib J, Duriez P, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit thrombin-induced endothelin-1 production in human vascular endothelial cells by inhibiting the activator protein-1 signaling pathway. *Circ Res* **85**, 394-402 (1999).
- 122) Matsumoto T, Kobayashi T, Kamata K. Relationships among ET-1, PPARgamma, oxidative stress and endothelial dysfunction in diabetic animals. *J Smooth Muscle Res* **44**, 41-55 (2008).
- 123) Duan SZ, Usher MG, Mortensen RM. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-mediated effects in the vasculature. *Circ Res* **102**, 283-294 (2008).
- 124) Kanie N, Matsumoto T, Kobayashi T, Kamata K. Relationship between peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR alpha and PPAR gamma) and endothelium-dependent relaxation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Pharmacol* **140**, 23-32 (2003).
- 125) Takenouchi Y, Kobayashi T, Taguchi K, Matsumoto T, Kamata K. Relationship among superoxide-related enzyme, PPARs, and endothelium-dependent relaxation in murine aortas previously organ-cultured in high-glucose conditions. *Can J Physiol Pharmacol* **88**, 760-769 (2010).
- 126) Min Q, Bai YT, Jia G, Wu J, Xiang JZ. High glucose enhances angiotensin-II-mediated peroxisome proliferation-activated receptor-gamma inactivation in human coronary artery endothelial cells. *Exp Mol Pathol* **88**, 133-137 (2010).
- 127) Martin-Nizard F, Furman C, Delerive P, Kandoussi A, Fruchart JC, Staels B, Duriez P. Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit oxidized low-density lipoprotein-induced endothelin-1 secretion in endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* **40**, 822-831 (2002).
- 128) Montezano AC, Amiri F, Tostes RC, Touyz RM, Schiffrin EL. Inhibitory effects of PPAR-gamma on endothelin-1-induced inflammatory pathways in vascular smooth muscle cells from normotensive and hypertensive rats. *J Am Soc Hypertens* **1**, 150-160 (2007).
- 129) Majithiya JB, Paramar AN, Balaraman R. Pioglitazone, a PPARgamma agonist, restores endothelial function in aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovasc Res* **66**, 150-161 (2005).
- 130) Toba H, Miki S, Shimizu T, Yoshimura A, Inoue R, Sawai N, Tsukamoto R, Murakami M, Morita Y, Nakayama Y, Kobara M, Nakata T. The direct antioxidative and anti-inflammatory effects of peroxisome proliferator-activated receptors ligands are associated with the inhibition of angiotensin converting enzyme expression in streptozotocin-induced diabetic rat aorta. *Eur J Pharmacol* **549**, 124-132 (2006).
- 131) Ashoff A, Qadri F, Eggers R, Johren O, Raasch W, Dendorfer A. Pioglitazone prevents capillary rarefaction in streptozotocin-diabetic rats independently of glucose control and vascular endothelial growth factor expression. *J Vasc Res* **49**, 260-266 (2012).
- 132) Matsumoto T, Noguchi E, Kobayashi T, Kamata K. Mechanisms underlying the chronic pioglitazone treatment-induced improvement in the impaired endothelium-dependent relaxation seen in aortas from diabetic rats. *Free Radic Biol Med* **42**, 993-1007 (2007).
- 133) Nakamura T, Ushiyama C, Shimada N, Hayashi K, Ebihara I, Koide H. Comparative effects of pioglitazone, glibenclamide, and voglibose on urinary endothelin-1 and albumin excretion in diabetes patients. *J Diabetes Complications* **14**, 250-254 (2000).
- 134) 高原充佳、金藤秀明: 糖尿病治療薬としての作用機序と特性,付加価値 4. DPP-4 阻害薬. 月刊糖尿病 糖尿病治療ハンドブック (河盛隆造 編集) **3**, 30-41 (2011).
- 135) 山根俊介、稲垣暢也: 糖尿病治療薬としての作用機序と特性,付加価値 7. GLP-1 受容体作動薬. 月刊糖尿病 糖尿病治療ハンドブック (河盛隆造 編集) **3**, 59-68 (2011).
- 136) Nikolaidis LA, Elahi D, Hentosz T, Doverspike A, Huerbin R, Zourelis L, Stolarski C, Shen YT, Shannon RP. Recombinant glucagon-like peptide-1 increases myocardial glucose uptake and improves left ventricular performance in conscious dogs with pacing-induced dilated cardiomyopathy. *Circulation* **110**, 955-961 (2004).
- 137) Bose AK, Mocanu MM, Carr RD, Brand CL, Yellon DM. Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury. *Diabetes* **54**, 146-151 (2005).
- 138) Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, Miske G, Shah A, Elahi D, Shannon RP. Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation* **109**, 962-965 (2004).
- 139) Nistrom T, Gutniak MK, Zhang Q, Zhang F, Holst JJ, Ahren B, Sjolholm A. Effects of glucagon-like peptide-1 on endothelial function in type 2 diabetes patients with stable coronary artery disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **287**, E1209-E1215 (2004).
- 140) Dai Y, Mehta JL, Chen M. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist liraglutide inhibits endothelin-1 in endothelial cell by repressing nuclear factor-kappa B activation. *Cardiovasc Drugs Ther* **27**, 371-380 (2013).
- 141) Lefer AM, Scalia R, Lefer DJ. Vascular effects of HMG CoA-reductase inhibitors (statins) unrelated to cholesterol lowering: new concepts for cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* **49**, 281-287 (2001).
- 142) Sirtori CR. The pharmacology of statins. *Pharmacol Res* **in press** (2014).
- 143) 木庭新治、佐々木淳: 脂質異常症と糖尿病 UPDATE 13. 糖尿病における脂質異常症への介入研究. 月刊糖尿病 脂質異常症と糖尿病 UPDATE (及川眞一 編集) **2**, 107-119 (2011).

- 144) Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Navarro-Antolin J, Sanchez-Pascuala R, Hernandez G, Diaz C, Lamas S. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest* **101**, 2711-2719 (1998).
- 145) Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Soria E, Lamas S. Involvement of Rho GTPases in the transcriptional inhibition of preproendothelin-1 gene expression by simvastatin in vascular endothelial cells. *Circ Res* **87**, 161-622 (2000).
- 146) Mueck AO, Seeger H, Lippert TH. Fluvastatin reduces endothelin secretion of cultured human umbilical vein endothelial cells. *Eur J Clin Pharmacol* **55**, 625-626 (1999).
- 147) Ozaki K, Yamamoto T, Ishibashi T, Matsubara T, Nishio M, Aizawa Y. Regulation of endothelial nitric oxide synthase and endothelin-1 expression by fluvastatin in human vascular endothelial cells. *Jpn J Pharmacol* **85**, 147-154 (2001).
- 148) Morikawa S, Takabe W, Mataka C, Kanke T, Itoh T, Wada Y, Izumi A, Saito Y, Hamakubo T, Kodama T. The effect of statins on mRNA levels of genes related to inflammation, coagulation, and vascular constriction in HUVEC. Human umbilical vein endothelial cells. *J Atheroscler Thromb* **9**, 178-183 (2002).
- 149) Ohkita M, Sugii M, Ka Y, Kitamura A, Mori T, Hayashi T, Takaoka M, Matsumura Y. Differential effects of different statins on endothelin-1 gene expression and endothelial NOS phosphorylation in porcine aortic endothelial cells. *Exp Biol Med* **23**, 772-776 (2006).
- 150) Hisada T, Ayaori M, Ohnui N, Nakashima H, Nakaya K, Uto-Kondo H, Yakushiji E, Takiguchi S, Terao Y, Miyamoto Y, Adachi T, Nakamura H, Ohsuzu F, Ikewaki K, Sakurai Y. Statin inhibits hypoxia-induced endothelin-1 via accelerated degradation of HIF-1 α in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* **95**, 251-259 (2012).
- 151) Xu CB, Stenman E, Edvinsson L. Reduction of bFGF-induced smooth muscle cell proliferation and endothelin receptor mRNA expression by mevastatin and atorvastatin. *Biochem Pharmacol* **64**, 497-505 (2002).
- 152) Lee DL, Wamhoff BR, Katwa LC, Reddy HK, Voelker DJ, Dixon JL, et al. Increased endothelin-induced Ca²⁺ signaling, tyrosine phosphorylation, and coronary artery disease in diabetic dyslipidemic Swine are prevented by atorvastatin. *J Pharmacol Exp Ther* **306**, 132-140 (2003).
- 153) Nakamura T, Ushiyama C, Hirokawa K, Osada S, Shimada N, Koide H. Effect of cerivastatin on urinary albumin excretion and plasma endothelin-1 contractions in type 2 diabetes patients with microalbuminuria and dyslipidemia. *Am J Nephrol* **21**, 449-454 (2001).
- 154) Nemoto S, Taguchi K, Matsumoto T, Kamata K, Kobayashi T. Pravastatin normalizes ET-1-induced contraction in the aorta of type 2 diabetic OLETF rats by suppressing the KSR1/ERK complex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **303**, H893-902 (2012).
- 155) Iglarz M, Touyz RM, Amiri F, Lavoie MF, Diep QN, Schiffrin EL. Effect of peroxisome proliferator-activated receptor- α and - γ activators on vascular remodeling in endothelin-dependent hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **23**, 45-51 (2003).
- 156) Irukayama-Tomobe Y, Miyauchi T, Sakai S, Kasuya Y, Ogata T, Takanashi M, Iemitsu M, Sudo T, Goto K, Yamaguchi I. Endothelin-1-induced cardiac hypertrophy is inhibited by activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α partly via blockade of c-Jun NH2-terminal kinase pathway. *Circulation* **109**, 904-910 (2004).
- 157) Newaz M, Blanton A, Fidelis P, Oyekan A. NAD(P)H oxidase/nitric oxide interactions in peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) α -mediated cardiovascular effects. *Mutat Rev* **579**, 163-171 (2005).
- 158) Williams JM, Zhao X, Wang MH, Imig JD, Pollock DM. Peroxisome proliferator-activated receptor- α activation reduces salt-dependent hypertension during chronic endothelin B receptor blockade. *Hypertension* **46**, 366-371 (2005).
- 159) Martin-Nizard F, Furman C, Delerive P, Kandoussi A, Fruchardt JC, Staels B, Duriez P. Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit oxidized low-density lipoprotein-induced endothelin-1 secretion in endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* **40**, 822-831 (2002).
- 160) Ogata T, Miyauchi T, Sakai S, Irukayama-Tomobe Y, Goto K, Yamaguchi I. Stimulation of peroxisome-proliferator-activated receptor α (PPAR α) attenuates cardiac fibrosis and endothelin-1 production in pressure-overloaded rat hearts. *Clin Sci* **103**, 284S-288S (2002).
- 161) Kandoussi A, Martin F, Hazzan M, Noel C, Fruchardt JC, Staels B, Duriez P. HMG-CoA reductase inhibition and PPAR- α activation both inhibit cyclosporine A induced endothelin-1 secretion in cultured endothelial cells. *Clin Sci* **103**, 81S-83S (2002).
- 162) Yakubu MA, Nsaif RH, Oyekan AO. Peroxisome proliferator-activated receptor α activation-mediated regulation of endothelin-1 production via nitric oxide and protein kinase C signaling pathways in piglet cerebral microvascular endothelial cell culture. *J Pharmacol Exp Ther* **320**, 774-781 (2007).
- 163) Bulhak AA, Sjoquist PO, Xu CB, Edvinsson L, Pernow J. Protection against myocardial ischaemia/reperfusion injury by PPAR- α activation is related to production of nitric oxide and endothelin-1. *Basic Res Cardiol* **101**, 244-252 (2006).
- 164) Kamata K, Kobayashi T. Changes in superoxide dismutase mRNA expression by streptozotocin-induced diabetes. *Br J Pharmacol* **119**, 583-589 (1996).
- 165) Kobayashi T, Kamata K. Relationship among cholesterol, superoxide anion and endothelium-dependent relaxation in diabetic rats. *Eur J Pharmacol* **367**, 213-222 (1999).

- 166) Kobayashi T, Kamata K. Effect of chronic insulin treatment on NO production and endothelium-dependent relaxation in aortae from established STZ-induced diabetic rats. *Atherosclerosis* **155**, 313-320 (2001).
- 167) Kamata K, Kanie N, Matsumoto T, Kobayashi T. Endothelin-1-induced impairment of endothelium-dependent relaxation in aortas isolated from controls and diabetic rats. *J Cardiovasc Pharmacol* **44**, S186-S190 (2004).
- 168) Lopez-Sepulveda R, Gomez-Guzman M, Zarzuelo MJ, Romero M, Sanchez M, Quintela AM, Galindo P, O'Valle F, Tamargo J, Perez-Vizcaino F, Duarte J, Jimenez R. Red wine polyphenols prevent endothelial dysfunction induced by endothelin-1 in rat aorta: role of NADPH oxidase. *Clin Sci* **120**, 321-333 (2011).
- 169) Callera GE, Tostes RC, Yogi A, Montezano AC, Touyz RM. Endothelin-1-induced oxidative stress in DOCA-salt hypertension involves NADPH-oxidase-independent mechanisms. *Clin Sci* **110**, 243-253 (2006).
- 170) Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local rennin-angiotensin systems. *Physiol Rev* **86**, 747-803 (2006).
- 171) Rusten C, Wolf G. Renin-angiotensin-aldosterone system and progression of renal disease. *J Am Soc Nephrol* **17**, 2985-2991 (2006).
- 172) Michel MC, Foster C, Brunner HR, Liu L. A systematic comparison of the properties of clinically used angiotensin II type 1 receptor antagonist. *Pharmacol Rev* **65**, 809-848 (2013).
- 173) Emori T, Hirata Y, Ohta K, Kanno K, Eguchi S, Imai T, et al. Cellular mechanism of endothelin-1 release by angiotensin and vasopressin. *Hypertension* **18**, 165-170 (1991).
- 174) Hong HJ, Chan P, Liu JC, Juan SH, Huang MT, Lin JG, et al. Angiotensin II induces endothelin-1 gene expression via extracellular signal-regulated kinase pathway in rat aortic smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* **61**, 159-168 (2004).
- 175) An SJ, Boyd R, Zhu M, Chapman A, Pimentel DR, Wang HD. NADPH oxidase mediates angiotensin II-induced endothelin-1 expression in vascular adventitial fibroblasts. *Cardiovasc Res* **75**, 702-709 (2007).
- 176) D'Uscio LV, Shaw S, Barton M, Luscher F. Losartan but not verapamil inhibits angiotensin II-induced tissue endothelin-1 increase: role of blood pressure and endothelial function. *Hypertension* **31**, 1305-1310 (1998).
- 177) Kawaguchi H, Sawa H, Yasuda H. Endothelin stimulates angiotensin I to angiotensin II conversion in cultured pulmonary artery endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol* **22**, 839-842 (1990).
- 178) Wenzel RR, Ruthemann J, Bruck H, Schafer RF, Michel MC, Philipp T. Endothelin-A receptor antagonist inhibits angiotensin II and noradrenaline in man. *Br J Clin Pharmacol* **52**, 151-157 (2001).
- 179) Kobayashi T, Nogami R, Taguchi K, Matsumoto T, Kamata K. Diabetic state, high plasma insulin and angiotensin II combine to augment endothelin-1-induced vasoconstriction via ETA receptors and ERK. *Br J Pharmacol* **155**, 974-983 (2008).
- 180) Iwase M, Doi Y, Gogo D, Ichikawa K, Iino K, Yoshinari M, et al. Effect of nicardipine versus enalapril on plasma endothelin-1 in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Exp Hypertens* **22**, 695-703 (2000).
- 181) Schneider JG, Tilly N, Hirerl T, Sommer U, Hamann A, Dugi K, et al. Elevated plasma endothelin-1 levels in diabetes mellitus. *Am J Hypertens* **15**, 967-972 (2002).
- 182) Gagliardini E, Corna D, Zoja C, Sangalli F, Carrara F, Rossi M, et al. Unlike each drug alone, lisinopril if combined with avosentan promotes regression of renal lesions in experimental diabetes. *Am J Physiol Renal Physiol* **297**, F1448-1456 (2009).
- 183) Mohanan A, Gupta R, Dubey A, Jagtap V, Mandhare A, Gupta RC, et al. TRC120038, a novel dual AT(1)/ET(A) receptor blocker for control of hypertension, diabetic nephropathy, and cardiomyopathy in ob-ZSF1 rats. *Int J Hypertens* **2011**, 751513 (2011).
- 184) Struthers AD. Aldosterone-induced vasculopathy. *Mol Cell Endocrinol* **217**, 239-241 (2004).
- 185) Schiffrin EL. Effects of aldosterone on the vasculature. *Hypertension* **47**, 312-318 (2006).
- 186) Hollenberg NK, Stevanovic R, Agarwal A, Lansang MC, Price DA, Laffel LM, et al. Plasma aldosterone concentration in the patient with diabetes mellitus. *Kidney Int* **65**, 1435-1439 (2004).
- 187) Fredersdorf S, Endemann DH, Luchner A, Heitzmann D, Ulucon C, Birner C, et al. Increased aldosterone levels in a model of type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* **117**, 15-20 (2009).
- 188) Bender SB, McGraw AP, Jaffe IZ, Sowers JR. Mineralocorticoid receptor-mediated vascular insulin resistance: an early contributor to diabetes-related vascular disease? *Diabetes* **62**, 313-319 (2013).
- 189) Rossi GP, Cavallin M, Nussdorfer GG, Pessina AC. The endothelin-aldosterone axis and cardiovascular diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* **38**, S49-52 (2001).
- 190) Briet M, Schiffrin EL. Vascular actions of aldosterone. *J Vasc Res* **50**, 89-99 (2013).
- 191) Pu Q, Neves MF, Virdis A, Touyz RM, Schiffrin EL. Endothelin antagonism on aldosterone-induced oxidative stress and vascular remodeling. *Hypertension* **42**, 49-55 (2003).
- 192) Maron BA, Zhang YY, White K, Chan SY, Handy DE, Mahoney CE, et al. Aldosterone inactivates the endothelin-B receptor via a cysteinyl thiol redox switch to decrease pulmonary endothelial nitric oxide levels and modulate pulmonary arterial hypertension. *Circulation* **126**, 963-974 (2012).
- 193) Park JB, Schiffrin EL. ET(A) receptor antagonist prevents blood pressure elevation and vascular remodeling in aldosterone-infused rats. *Hypertension* **37**, 1444-1449 (2001).
- 194) Fujisawa G, Okada K, Muto S, Fujita N, Itabashi N, Kusano E, et al. Spironolactone prevents early renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kidney Int* **66**, 1493-1502 (2004).
- 195) Zhou Q, Liu K, Wu H, Chen L, Pouranan V, Yuan M, et al. Spironolactone rescues Dot1a-Af9-mediated repression

- of endothelin-1 and improves kidney injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *PLoS One* **7**, e47360 (2012).
- 196) Heerspink HJ, de Zeeuw D. The kidney in type 2 diabetes therapy. *Rev Diabet Stud* **8**, 392-402 (2011).
- 197) Abuannadi M, O'Keefe JH. Review article: eplerenone: an underused medication? *J Cardiovasc Pharmacol Ther* **15**, 318-325 (2010).
- 198) Funder JW. Mineralocorticoid receptor antagonists: emerging roles in cardiovascular medicine. *Integr Blood Press Control* **6**, 129-138 (2013).
- 199) Yamawaki H. Mechanisms of action of novel adipokines on the vascular system. *Nihon Yakurigaku Zasshi* **137**, 131-135 (2011).
- 200) Yamauchi T, Kadowaki T. [Adipokines]. *Nihon Rinsho* **71**, 251-256 (2013).
- 201) Xita N, Tsatsoulis A. Adiponectin in diabetes mellitus. *Curr Med Chem* **19**, 5451-5458 (2012).
- 202) 門脇孝. アディポネクチンとその受容体 - 抗生活習慣病ホルモンの全貌. フジメディカル出版 (2008/06).
- 203) Bedi D, Clarke KJ, Dennis JC, Zhong Q, Brunson BL, Morrison EE, Judd RL. Endothelin-1 inhibits adiponectin secretion through a phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate/actin-dependent mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* **345**, 332-339 (2006).
- 204) Juan CC, Chuang TY, Chang CL, Huang SW, Ho LT. Endothelin-1 regulates adiponectin gene expression and secretion in 3T3-L1 adipocytes via distinct signaling pathways. *Endocrinology* **148**, 1835-1842 (2007).
- 205) Mahadik SR, Lele RD, Mehtalia SD, Deo SS, Parikh V. Regulation of adiponectin secretion in human subcutaneous and omental adipose tissue: effects of pioglitazone and endothelin-1: a pilot study. *J Assoc Physicians India* **61**, 244-248 (2013).
- 206) Nacci C, Leo V, De Benedictis L, Carratu MR, Bartolomeo N, Altomare M, Giordano P, Faienza MF, Montagnani M. Elevated endothelin-1 (ET-1) levels may contribute to hypoadiponectinemia in childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab* **98**, E683-93 (2013).
- 207) Bussey CT, Kolka CM, Rattigan S, Richards SM. Adiponectin opposes endothelin-1-mediated vasoconstriction in the perfused rat hindlimb. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **301**, H79-86 (2011).
- 208) Nakamaki S, Satoh H, Kudoh A, Hayashi Y, Hirai H, Watanabe T. Adiponectin reduces proteinuria in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Exp Biol Med* **236**, 614-620 (2011).
- 209) Munir KM, Chandrasekaran S, Gao F, Quon MJ. Mechanisms for food polyphenols to ameliorate insulin resistance and endothelial dysfunction: implications for diabetes and its vascular complications. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **305**, E679-E686 (2013).
- 210) Van Dam RM, Naidoo N, Landberg R. Dietary flavonoids and the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases: review of recent findings. *Curr Opin Lipidol* **24**, 25-33 (2013).
- 211) Taguchi K, Hida M, Matsumoto T, Ikeuchi-Takahashi Y, Onishi H, Kobayashi T. Effect of short-term polyphenol treatment on endothelial dysfunction and thromboxane A2 levels in streptozotocin-induced diabetic mice. *Biol Pharm Bull* **37**, 1056-1061 (2014).
- 212) Labinskyy N, Csiszar A, Veress G, Stef G, Pacher P, Oroszi G, Wu J, Ungvari Z. Vascular dysfunction in aging: potential effects of resveratrol, an anti-inflammatory phytoestrogen. *Curr Med Chem* **13**, 989-996 (2006).
- 213) Csiszar A. Anti-inflammatory effects of resveratrol: possible role in prevention of age-related cardiovascular disease. *Ann N Y Acad Sci* **1215**, 117-122 (2011).
- 214) Wallerath T, Deckert G, Ternes T, Anderson H, Li H, Witte K, Forstermann U. Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* **106**, 1652-1658 (2002).
- 215) Jimenez-Gomez Y, Mattison JA, Pearson KJ, Martin-Montalvo A, Palacios HH, Sossong AM, Ward TM, Younts CM, Lewis K, Allard JS, Longo DL, Belman JP, Malagon MM, Navas P, Sanghvi M, Moaddel R, Tilmont EM, Herbert RL, Morrell CH, Egan JM, Baur JA, Ferrucci L, Bogan JS, Bernier M, de Cabo R. Resveratrol improves adipose insulin signaling and reduces the inflammatory response in adipose tissue of rhesus monkeys on high-fat, high-sugar diet. *Cell Metab* **18**, 533-545 (2013).
- 216) El-Mowafy AM, Alkhalaf M, Nassar NN. Resveratrol reverses ET-1-evoked mitogenic effects in human coronary arterial cells by activating the kinase-G to inhibit ERK-enzymes. *Int J Cardiol* **136**, 263-269 (2009).
- 217) Liu JC, Chen JJ, Chan P, Cheng CF, Cheng TH. Inhibition of cyclic strain-induced endothelin-1 gene expression by resveratrol. *Hypertension* **42**, 1198-1205 (2003).
- 218) Schmitt CA, Heiss EH, Dirsch VM. Effect of resveratrol on endothelial cell function: molecular mechanisms. *Biofactors* **36**, 342-349 (2010).
- 219) Yang J, Wang N, Li J, Zhang J, Feng P. Effects of resveratrol on NO secretion stimulated by insulin and its dependence on SIRT1 in high glucose cultured endothelial cells. *Endocrine* **37**, 365-372 (2010).
- 220) Babu PV, Liu D. Green tea catechins and cardiovascular health: an update. *Curr Med Chem* **15**, 1840-1850 (2008).
- 221) Wang CJ, Liu JT, Guo F. (-)-Epigallocatechin gallate inhibits endothelin-1-induced C-reactive protein production in vascular smooth muscle cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **107**, 669-675 (2010).
- 222) Yang J, Han Y, Chen C, Sun H, He D, Guo J, Jiang B, Zhou L, Zeng C. EGCG attenuates high glucose-induced endothelial cell inflammation by suppression of PKC and NF- κ B signaling in human umbilical vein endothelial cells. *Life Sci* **92**, 589-597 (2013).

- 223) Reiter CE, Kim JA, Quon MJ. Green tea polyphenol epigallocatechin gallate reduces endothelin-1 expression and secretion in vascular endothelial cells: roles for AMP-activated protein kinase, Akt, and FOXO1. *Endocrinology* **151**, 103-114 (2010).
- 224) Matsumoto T, Watanabe S, Kawamura R, Taguchi K, Kobayashi T. Epigallocatechin gallate attenuates ET-1-induced contraction in carotid artery from type 2 diabetic OLETF rat at chronic stage of disease. *Life Sci* **in press** (2014).
- 225) Kanie N, Kamata K. Effects of chronic administration of the novel endothelin antagonist J-104132 on endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rat. *Br J Pharmacol* **135**, 1935-1942 (2002).
- 226) Mather KJ. The vascular endothelium in diabetes-a therapeutic target? *Rev Endocr Metab Disord* **14**, 87-99 (2013).
- 227) Mann JF, Green D, Jamerson K, Rulope LM, Kuranoff SJ, Littke T, Viberti G; ASCEND Study Group. Avasentan for overt diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* **21**, 527-535 (2010).
- 228) Hoekman J, Lambers Heerspink HJ, Viberti G, Green D, Mann JF, de Zeeuw D. Predictors of congestive heart failure after treatment with an endothelin receptor antagonist. *Clin J Am Soc Nephrol* **9**, 490-498 (2014).

The role of endothelin-1 on diabetic vasculopathy and beneficial effects of current
therapeutic drugs for diabetes on the vascular endothelin-1 system

Takayuki MATSUMOTO, Kumiko TAGUCHI, Tsuneo KOBAYASHI

Department of Physiology and Morphology, Institute of Medicinal Chemistry, Hoshi University

The rising epidemic of diabetes mellitus is of significant concern worldwide. Although the ultimate objective is to prevent the development and find a cure for the disease, prevention and treatment of diabetic systematic complications is very important issue. Vascular complications in diabetes (Type 1 and Type 2), or diabetic vasculopathies, include micro- and macro-vascular dysfunction and represent the principal cause of morbidity and mortality in diabetic patients. Vascular dysfunctions such as endothelial and smooth muscle dysfunctions play important roles in the development and progression of diabetic vasculopathy. Among a number of endogenous vasoactive factors, endothelin-1 (ET-1), an endothelial cell-derived peptide, is a potent vasoconstrictor with pro-oxidative, pro-inflammatory, and mitogenic properties that are particularly associated with the pathophysiology of cardiovascular diseases including diabetic vasculopathy. Augmented ET-1 system is reported in diabetic animal models and patients and the functional effects of ET-1 and its receptors and associated down-stream molecules in vasculature are also greatly altered in diabetes. The current therapeutic approaches against diabetes include glucose lowering, sensitization to insulin, reduction of fatty acids and vasculo-protective therapies. However, whether and how these therapeutic approaches affect the ET-1 system in vasculature remains unclear. Therefore, in the present brief review, we will focus on clinical and experimental evidence that indicates a role for ET-1 in diabetic vasculopathy and on the direct and/or indirect effects of current therapeutic approaches in diabetes on the ET-1 system in vasculature.